

# **UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

## **Faculdade de Ciências e Tecnologia**

### **Estudo do efeito da radiação ionizante na capacidade antioxidante dos compostos presentes na água de processo da indústria corticeira**

**Por**  
**Joana Filipa de Paiva dos Santos Madureira**

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de  
Lisboa para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Prof. Dra. Isabel Fonseca

Co-Orientador: Mestre Rita Melo

**Lisboa 2011**



Estudo do efeito da radiação ionizante na capacidade antioxidante dos compostos presentes na água de processo da indústria corticeira. Copyright. Joana Filipa de Paiva dos Santos Madureira. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa. A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## Agradecimentos

*“Há muitas coisas difíceis, mas nada é impossível”*

É verdade que a Dissertação de Mestrado é um processo solitário a que todos estamos sujeitos. No entanto, reúne contributos de muitas pessoas que, de uma forma ou de outra, contribuíram para que se tornasse uma realidade.

O meu mais sincero agradecimento,

Em primeiro lugar, aos meus orientadores, Professora Isabel Fonseca e Mestre Rita Melo, por todas as sugestões e críticas.

Ao Instituto Tecnológico e Nuclear (ITN) e, em especial, à Dra. Luísa Botelho por me ter recebido e possibilitado a realização desta Dissertação.

À Fabricor, em especial à Engenheira Sónia Ribeiro, por me ter permitido fazer as recolhas e pela simpatia com que me receberam.

Às minhas babes, Milene Bação, Inês Nunes, Sandra Cabo Verde, Telma Silva, Helena Marcos e Marina Oliveira, por todo o apoio e amizade durante os meses que trabalhei no Instituto Tecnológico e Nuclear. Foram as melhores companheiras! Obrigada também ao Amílcar António e ao Pedro Santos, porque são os homens do grupo, mas muito importantes também.

Mais uma vez, à minha orientadora, Mestre Rita Melo, pelo apoio incansável e por toda a disponibilidade, mas também por toda a amizade e carinho.

Aos meus amigos e amigas, que estiveram presentes ao longo de todos estes anos, por todo o companheirismo e amizade e, também, por toda a paciência.

Ao Filipe, por todo o amor e dedicação, por todo o respeito e paciência, por todas as horas difíceis e por todo o apoio. Foram imprescindíveis para mim!

A toda a minha família e, em especial, ao meu avô Paiva que onde quer que esteja, estará muito feliz por mim. A ele dedico toda a minha Tese...

Por fim, mas nunca menos importantes, aos meus pais, Carlos e Manuela, porque sem eles a minha vida não seria a mesma, e ao meu irmão Pedro, que desde o primeiro dia das nossas vidas me estende a mão. A eles, um muito obrigada, porque sempre estiveram presentes e me ensinaram a lutar pelos meus objectivos.



## Resumo

No processo de transformação da cortiça, as águas de cozedura são misturas complexas com elevada concentração de polifenóis, tais como taninos, ácidos benzóicos e cinâmicos, sendo alguns conhecidos pelo seu elevado poder antioxidante.

A radiação ionizante induz a degradação de compostos e a inactivação de microrganismos, dependendo do tipo de energia, do débito de dose e da dose absorvida. É usada em inúmeros processos industriais, como a esterilização, irradiação de alimentos e o tratamento de águas contaminadas que levam à desinfestação e ao aumento da qualidade da água. Um dos efeitos da interacção da radiação com a água é a produção de espécies altamente reactivas que reagem com os compostos presentes na matriz provocando alterações estruturais.

Este trabalho é pioneiro e estuda os efeitos da radiação ionizante na capacidade antioxidante dos compostos presentes na água de processo de uma Indústria Transformadora de Cortiça. Os estudos de radiação são realizados com diferentes doses de radiação e diferentes débitos de dose, na fonte experimental de Cobalto-60 situada no Instituto Tecnológico e Nuclear, em Sacavém. A avaliação destes efeitos na quantidade de matéria orgânica é feita através de duas técnicas, a Carência Química de Oxigénio (CQO) e o Carbono Orgânico Total (COT). Os efeitos na actividade antioxidante são estudados através do método de sequestro do radical DPPH<sup>•</sup> e do Poder Redutor Férrico (FRAP) e o conteúdo em compostos fenólicos através do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu.

Os resultados mostram que a radiação gama altera significativamente tanto a quantidade de compostos fenólicos como a capacidade antioxidante das amostras de água de cozedura de cortiça, mas não provoca alterações significativas na quantidade de matéria orgânica. Assim, existe um potencial de tratamento integrado destas águas devido ao aumento do poder antioxidante, sendo possível reaproveitá-las para outros fins como, por exemplo, a extracção de antioxidantes naturais para a Indústria Alimentar.

Palavras-Chave: Águas de Cozedura, Cortiça, Radiação Gama, Antioxidantes.





## Abstract

In the process of transforming cork, the cork boiling wastewaters are complex mixtures that have a high concentration of polyphenols such as tannins, benzoic and cinnamic acids that are known for their high antioxidant activity.

Ionizing radiation induces both the degradation of compounds and the inactivation of microorganisms depending on the type of energy, dose rate, and absorbed dose. It is used in many industrial processes including sterilization, food irradiation and contaminated wastes treatment that ensure disinfection and increase water quality. One of the effects of the interaction of radiation with water is the production of highly reactive species that react with the compounds present in the matrix leading to changes in its structure.

This work is pioneer and it is based on the assessment of the effects of ionizing radiation on the ability of antioxidant compounds present in water cooking process of a Cork Industry. Radiation studies are performed with different radiation doses and different dose rates. The experimental source of Cobalt-60 is located in the Instituto Tecnológico e Nuclear in Sacavém. The assessment of these effects on the amount of organic matter is made by two techniques: the Chemical Oxygen Demand (COD) and Total Organic Carbon (TOC). The effects on antioxidant activity are studied by the method of scavenging of the radical DPPH<sup>•</sup> and Ferric Reducing Power (FRAP) assay. The content in phenolic compounds is studied using the colorimetric method of Folin-Ciocalteu.

The results shows that gamma irradiation significantly changes both the amount of phenolic compounds and antioxidant capacity of samples of cork cooking water, but does not cause significantly changes in the amount of organic matter. Thus, with this work we studied the potential of integrated treatment of these waters and their reuse for other purposes like the extraction of natural antioxidants for the food industry.

Keywords: Boiling water, Cork, Gamma irradiation, Antioxidants.



# Conteúdo

Resumo.....	vii
Abstract .....	ix
Lista de figuras .....	xv
Lista de tabelas .....	xix
Lista de símbolos e abreviaturas .....	xxi
CAPÍTULO I.....	1
I. INTRODUÇÃO .....	1
I.1 Indústria da cortiça .....	1
I.1.1 Características da cortiça.....	3
I.1.2 A estrutura da cortiça [8].....	3
I.1.3 Processamento da cortiça .....	5
I.1.4 A empresa Fabricor .....	8
I.2 Radiação.....	10
I.2.1 Radiação Ionizante .....	10
I.2.2 Interação de fótons com a matéria .....	12
I.2.3 O radioisótopo $^{60}\text{Co}$ .....	17
I.3 Dosimetria .....	19
I.3.1 Grandezas Dosimétricas Fundamentais.....	19
I.3.2 Sistemas Dosimétricos .....	20
I.4 Antioxidantes .....	26
I.4.1 Espécies Reactivas .....	26
I.4.2 Compostos Antioxidantes .....	27
CAPÍTULO II .....	33
II. MATERIAIS E MÉTODOS .....	33
II.1 Recolha das amostras .....	33

II.2	Preparação das amostras para irradiação.....	33
II.3	Equipamento de irradiação.....	33
II.3.1	A unidade de irradiação – Precisa 22 .....	33
II.3.2	Condições de irradiação .....	34
II.3.3	Dosimetria de referência – Solução de Fricke.....	37
II.4	Irradiação.....	39
II.4.1	Doses e Tempos de irradiação.....	39
II.4.2	Dosimetria de rotina – Polimetilmetacrilato .....	40
II.5	Pós-irradiação – Metodologias.....	41
II.5.1	Caracterização físico-química da água de cozedura de cortiça .....	41
II.5.2	Determinação do conteúdo em compostos fenólicos .....	43
II.5.3	Determinação da actividade antioxidante.....	43
II.5.4	Análise Estatística .....	46
II.5.5	Medidas de Correlação .....	47
CAPÍTULO III .....		51
III.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	51
III.1	Dosimetria Fricke.....	51
III.1.1	Posição A, B, C e I .....	52
III.2	Calibração .....	57
III.2.1	Carência Química de Oxigénio .....	57
III.2.2	Determinação do conteúdo em compostos fenólicos .....	58
III.2.3	Determinação da actividade antioxidante.....	59
III.3	Doses absorvidas e débitos de dose.....	62
III.4	Resultados experimentais do estudo do impacto da radiação gama nas propriedades das águas de cozedura .....	63
III.4.1	Caracterização físico-química das águas de cozedura de cortiça .....	63
III.4.2	Determinação do conteúdo em compostos fenólicos .....	66

III.4.3	Determinação da actividade antioxidante.....	68
III.5	Correlação Linear de Pearson .....	71
CAPÍTULO IV.....		79
IV.	CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO.....	79
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....		83
ANEXOS.....		I
ANEXO A. Protocolo experimental para preparação da Solução Dosimétrica de Fricke .....		III
ANEXO B. Protocolo experimental para utilização do Thermoreactor TR 300.....		V
ANEXO C. Protocolo experimental de Determinação de compostos fenólicos totais pelo Método Folin-Ciocalteu.....		IX
ANEXO D. Protocolo experimental para determinação do poder antioxidante DPPH .....		XI
ANEXO E. Protocolo experimental de determinação do poder antioxidante pelo Método FRAP .....		XIII
ANEXO F. Leitura dos Dosímetros de Polimetilmetacrilato .....		XVII
ANEXO G. Resultados experimentais referentes à irradiação do nível 3.....		XIX



## Lista de figuras

Figura I.1. Mapa da distribuição mundial do sobreiro [5].....	2
Figura I.2. Representação esquemática da disposição celular na cortiça [8] .....	3
Figura I.3. A estrutura celular da cortiça vista no plano tangencial (A) e transversal (B) [8].....	4
Figura I.4. Representação esquemática da parede celular da cortiça [8].....	4
Figura I.5. Etapas do processamento industrial da cortiça .....	7
Figura I.6. Equipamento utilizado na Fabricor S.A. ....	8
Figura I.7. Sistema de cozedura de cortiça na empresa Fabricor S.A. ....	9
Figura I.8. Relevância dos mecanismos de interacção da radiação com a matéria, de acordo com o número atómico Z do material e com a energia dos fotões incidentes [16] .....	13
Figura I.9. Interacção fotoeléctrica, em que o fotão desaparece e é substituído por um electrão ejectado do átomo [18].....	14
Figura I.10. Efeito de Compton de um fotão incidente, com o fotão disperso num ângulo $\phi$ e o electrão Compton ejectado num ângulo $\theta$ [18].....	15
Figura I.11. Dispersão de <i>Rayleigh</i> , em que o fotão é absorvido e irradiado numa direcção diferente sem perda significativa de energia [18].....	16
Figura I.12. Esquema representativo da Produção de Pares, em que o fotão desaparece e dá lugar a um par electrão-positrão [18] .....	16
Figura I.13. Esquema das fases principais do declínio do $^{60}\text{Co}$ [16].....	18
Figura I.14. Estrutura química dos flavonóides [37].....	29
Figura I.15. Estrutura química dos ácidos benzóicos e cinâmicos [37] .....	30
Figura II.1. Câmara de irradiação da unidade experimental de $^{60}\text{Co}$ , Precisa 22 [49] .....	34
Figura II.2. Suporte de madeira utilizado para colocar as amostras a irradiar .....	34
Figura II.3. Ilustração da geometria de irradiação.....	35
Figura II.4. Representação dos locais de irradiação do nível 1, utilizados no desenvolvimento do trabalho.....	36
Figura II.5. Representação dos locais de irradiação do nível 2, utilizados no desenvolvimento do trabalho.....	36

Figura II.6. Representação dos locais de irradiação do nível 3, utilizados no desenvolvimento do trabalho.....	37
Figura II.7. Orientações dos dosímetros de rotina de PMMA.....	40
Figura II.8. Estrutura molecular do radical livre DPPH <sup>•</sup> [55] .....	44
Figura II.9. Redução do complexo TPTZ com Fe <sup>3+</sup> [36] .....	46
Figura II.10. Correlação linear positiva perfeita entre as variáveis X e Y (r=1).....	47
Figura II.11. Correlação linear nula entre as variáveis X e Y (r=0).....	48
Figura II.12. Correlação linear negativa perfeita entre as variáveis X e Y (r=-1).....	48
Figura II.13. Correlação não-linear entre as variáveis X e Y .....	48
Figura III.1. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação A1 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	52
Figura III.2. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação A2 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	52
Figura III.3. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação A3 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	53
Figura III.4. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação B1 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	53
Figura III.5. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação B2 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	54
Figura III.6. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação B3 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	54
Figura III.7. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação C1 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	55
Figura III.8. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação C2 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	55
Figura III.9. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação C3 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e $\alpha=0,05$ ) .....	56
Figura III.10. Recta de Calibração para o método de CQO (n=3) .....	58
Figura III.11. Recta de Calibração do ácido gálico para o método de Folin-Ciocalteu (n=3).....	59
Figura III.12. Recta de Calibração para o método de sequestro do radical DPPH <sup>•</sup> (n=3) .....	60



Figura III.13. Recta de Calibração do sulfato ferroso para o método de FRAP (n=3).....	61
Figura III.14. Variação da quantidade de matéria orgânica com o aumento da dose de irradiação, para as duas irradiações (n=3, $\alpha=0,05$ ).....	64
Figura III.15. Razão do carbono orgânico total presente nas amostras irradiadas pela amostra não irradiada para as duas irradiações (n=1).....	65
Figura III.16. Variação da quantidade de compostos fenólicos com o aumento da dose de irradiação (n=3; $\alpha=0,05$ ) .....	67
Figura III.17. Efeito da radiação na capacidade antioxidante dos antioxidantes das águas de cozedura da cortiça, pelo método de sequestro do radical DPPH (n=3; $\alpha=0,05$ ).....	69
Figura III.18. Actividade antioxidante das amostras irradiadas e não irradiadas para as duas irradiações (n=3; $\alpha=0,05$ ).....	70
Figura III.19. Correlação fraca positiva entre os parâmetros CQO e COT (r=0,260).....	71
Figura III.20. Correlação fraca positiva entre os parâmetros CQO e Folin (r=0,400) .....	72
Figura III.21. Correlação fraca positiva entre os parâmetros CQO e FRAP (r=0,244).....	72
Figura III.22. Correlação moderada e negativa entre os parâmetros COT e Folin (r=-0,749) .....	73
Figura III.23. Correlação forte e negativa entre os parâmetros COT e FRAP (r=-0,860).....	73
Figura III.24. Correlação forte e positiva entre os parâmetros Folin e FRAP (r=0,906) .....	74
Figura III.25. Correlação fraca e negativa entre os parâmetros CQO e COT (r=-0,150).....	74
Figura III.26. Correlação forte e negativa entre os parâmetros CQO e Folin (r=-0,824).....	75
Figura III.27. Correlação moderada e negativa entre os parâmetros CQO e FRAP (r=-0,683) .....	75
Figura III.28. Correlação fraca e negativa entre os parâmetros COT e Folin (r=-0,144).....	76
Figura III.29. Correlação moderada e negativa entre os parâmetros COT e FRAP (r=-0,508) .....	76
Figura III.30. Correlação forte e positiva entre os parâmetros Folin e FRAP (r=0,922) .....	77
Figura VI.1. Comportamento da quantidade de matéria orgânica em função da dose de irradiação (n=3, $\alpha=0,05$ ).....	XIX
Figura VI.2. Razões das amostras irradiadas e não irradiada, para o carbono orgânico total, em função da dose obtida (kGy) .....	XX
Figura VI.3. Conteúdo em compostos fenólicos em função da dose obtida (kGy) - razões das amostras irradiadas pela amostra de controlo (n=3, $\alpha=0,05$ ) .....	XXI

Figura VI.4. Razões obtidas de actividade antioxidante das amostras irradiadas pela não irradiada (n=3, $\alpha=0,05$ ).....	XXI
---	-----

## Lista de tabelas

Tabela I.1. Propriedades dos dosímetros de PMMA ( <i>Red Perspex</i> e <i>Amber Perspex</i> ).....	25
Tabela II.1. Dimensões dos suportes utilizados nas irradiações .....	35
Tabela II.2. Tempo de irradiação e doses previstas para as águas de cozedura de cortiça, calculados através dos débitos de dose (DDref) obtidos na dosimetria química .....	39
Tabela II.3. Coeficientes de calibração usados no cálculo da dose por dosimetria de rotina.....	40
Tabela II.4. Classificação da linearidade.....	49
Tabela III.1. Débitos de dose e respectivos erros padrão associados às irradiações .....	56
Tabela III.2. Resultados CQO obtidos das várias soluções de KHP (n=3; $\alpha=0,05$ ).....	57
Tabela III.3. Doses absorvidas e respectivos débitos de dose aproximados para cada nível de irradiação.....	62
Tabela III.4. Valores obtidos na medição do pH das amostras .....	66
Tabela III.5. Caracterização das águas residuais da cozedura da cortiça (AEP, 2000).....	68
Tabela III.6. Coeficientes de correlação de Pearson para os vários métodos, para as duas irradiações .....	77



## Lista de símbolos e abreviaturas

TCA – 2,4,6-Tricloroanisol

eV – Electrão-*Volt*, unidade de medida de energia

m.s<sup>-1</sup> – metro por segundo, unidade de velocidade

Z – Número atómico

E<sub>e</sub> – Energia Cinética

H – Constante de *Planck*

Co – Cobalto

Ni – Níquel

Kerma – *Kinetic Energy Released per unit Mass*

Gy – *Gray*, unidade da dose

D – Dose absorvida

PMMA – Polimetilmetacrilato

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ROS – Espécies Reactivas de Oxigénio

RNS – Espécies Reactivas de Azoto

HAT – Transferência de Átomo de Hidrogénio

ET – Transferência de Electrão

UV - Ultravioleta

CQO – Carência Química de Oxigénio

COT – Carbono Orgânico Total

CI – Carbono Inorgânico

CT – Carbono Total

HCl – Ácido Clorídrico

FC – Folin-Ciocalteu

DPPH - 2,2-Difenil-1-picril-hidrazila

FRAP – Poder Redutor Férrico

TPTZ – Tripiridiltriazina

KHP – Hidrogenoftalado de potássio

mg.L<sup>-1</sup> – miligrama por litro, unidade de concentração

mM – Milimolar, unidade de concentração

cm<sup>-1</sup> – unidade de absorvância

EAG – Equivalentes de ácido gálico

ESF – Equivalentes de sulfato ferroso







# CAPÍTULO I

## I. INTRODUÇÃO

### I.1 Indústria da cortiça

A cortiça, revestimento exterior do tronco e ramos do Sobreiro (*Quercus suber* L.), é um produto natural que, desde há muitos séculos, tem despertado o interesse das pessoas para diversos fins devido às suas propriedades físicas, mecânicas e químicas [1].

A produção de cortiça constitui, desde há muito, uma actividade económica relevante para Portugal, com importância crescente desde a segunda metade do século XIX e correspondendo a um dos mais importantes produtos singulares de exportação nacional. A transformação industrial da cortiça desenvolveu-se mais lentamente, adquirindo importância nacional principalmente a partir dos anos sessenta do século XX quando se desenvolveu de modo determinante a capacidade transformadora nacional, que levou o país a exportar principalmente produtos acabados em detrimento das exportações de matéria-prima e produtos semi-manufacturados.

Actualmente, Portugal é líder mundial na produção e transformação de cortiça. Esta é a matéria-prima que alimenta uma indústria de grande importância para a economia nacional – a Indústria da Cortiça. O nosso país possui 33% da área mundial ocupada por sobreiros e detém 55% da produção (cerca de 185 mil toneladas) e 85% da transformação de cortiça a nível mundial. O processo de transformação da cortiça envolve o uso de grandes quantidades de água, havendo consequentemente uma elevada produção de águas residuais. Estas águas apresentam uma elevada carga orgânica e considerável toxicidade, pois recorrem à extracção a quente das substâncias hidrossolúveis. São ricas em polifenóis, aminoácidos livres e outros extractos que permanecem em solução e que contribuem para a acidificação das águas (AEP, 2000) [2]. Além disso, estas águas apresentam uma baixa biodegradabilidade.

Das águas residuais produzidas na indústria da cortiça, as de cozedura são as mais difíceis de tratar, visto apresentarem uma composição complexa, rica em substâncias recalcitrantes, isto é, substâncias difíceis de degradar. Este problema é agravado pelo facto de existirem muitas unidades industriais de pequena dimensão, com caudais de águas residuais baixos e descontínuos, que são encaminhados para os meios receptores sem qualquer tratamento prévio.

As aplicações dadas à cortiça são muito variadas e vão desde bóias para a pesca, cortiços para abelhas e material de construção utilizado como isolante térmico e acústico, até à sua aplicação mais conhecida no caso das rolhas para garrafas de vinho. Esta última aplicação tornou-se

dominante a partir da segunda metade do século XVIII, primeiro na província da Catalunha, em Espanha, e a seguir no nosso país [1].

O Sobreiro é uma espécie que pertence às zonas de clima mediterrânico, tendo grande desenvolvimento na Península Ibérica, especialmente nas regiões de influência atlântica. Aqui, o Sobreiro afirma-se como a espécie arbórea dominante, formando sistemas seminaturais de uso múltiplo, designados por montados [1]. Estima-se que a área ocupada pelo sobreiro a nível mundial se situa muito próxima de 2,2 milhões de hectares. A sua distribuição geográfica estende-se por toda a bacia mediterrânica, chegando ainda a cobrir uma faixa significativa da costa atlântica [3] (Figura I.1.). A Península Ibérica contribui com 56% da área total, seguida de três países do Norte de África com 33% (Marrocos, Argélia e Tunísia) e, ainda, a Itália e a França com uma área conjunta que representa os restantes 11% [4].



**Figura I.1. Mapa da distribuição mundial do sobreiro [5]**

Em Portugal, o sobreiro ocupa uma área de cerca de 730 mil hectares, o que representa mais de 22% da área florestal nacional e cerca de 32% da área mundial da espécie [6].

A sua versatilidade e uso múltiplo fazem do sobreiro uma espécie de eleição no nosso país, no combate à desertificação física e humana e na sua valorização económico-social, ambiental, paisagística e cultural. Os montados têm um elevado valor conservacionista, abrigando uma rica e diversificada flora e fauna, nomeadamente das espécies cinegéticas [6].

### **I.1.1 Características da cortiça**

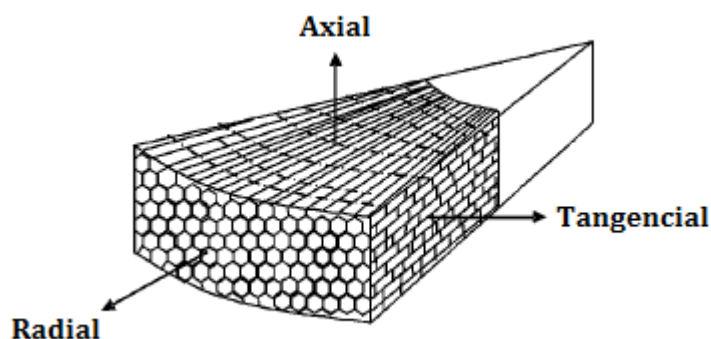
A cortiça é sustentável, pois pode ser extraída de nove em nove anos. Em média, cada sobreiro é sujeito a 16 tiradas, ao longo dos seus cerca de 150 a 200 anos de vida.

É composta por uma estrutura alveolar, com mais de 40 milhões de células por centímetro cúbico. Devido à grande quantidade de ar no interior das células e à baixa densidade das suas membranas, a leveza é uma das principais qualidades da cortiça. A sua excelente capacidade de compressibilidade, aliada à flexibilidade e à elasticidade das suas membranas, permite a rápida recuperação da sua forma inicial após a compressão [7].

A cortiça é natural, reciclável e biodegradável e nenhum material apresenta características comparáveis às da cortiça [7]. Além disso, a cortiça é impermeável a líquidos e a gases, confere bom isolamento térmico e acústico e é muito resistente ao atrito [6].

### **I.1.2 A estrutura da cortiça [8]**

A cortiça é constituída por células citoplasmaticamente mortas e sem espaços vazios entre si, dispostas topo a topo em fiadas contínuas orientadas radialmente. Cada célula tem geralmente uma forma prismática, com 14 faces (Figura I.2.).

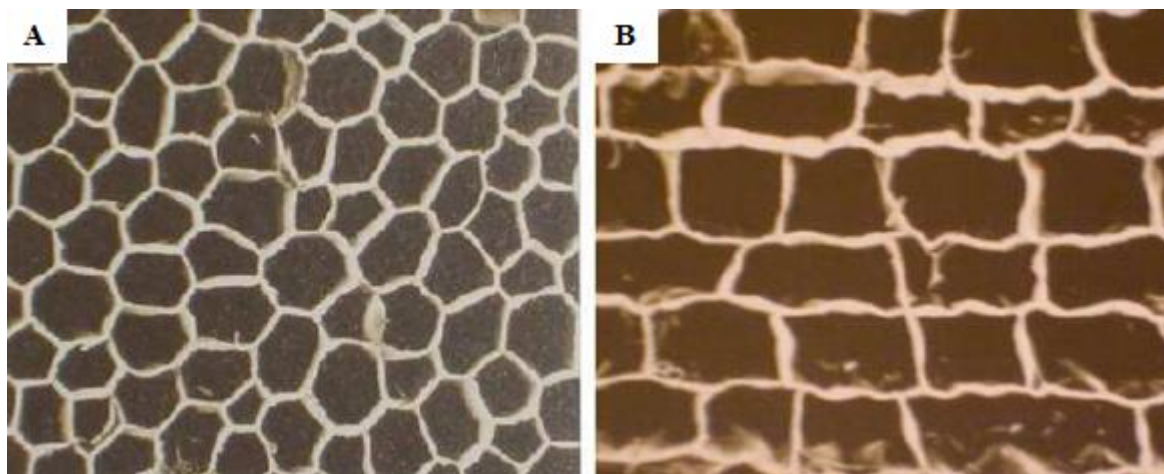


**Figura I.2. Representação esquemática da disposição celular na cortiça [8]**

Em cortes feitos radial e transversalmente as células da cortiça apresentam-se praticamente iguais, como polígonos de 4 a 6 lados. Nestas duas secções também se observa que os topos das células, em fiadas diferentes, estão desencontrados, estando cada célula em contacto com 14 células vizinhas.

Em corte tangencial, as células exibem uma estrutura semelhante a um favo-de-mel, em que cada célula tem em geral 5 a 7 lados (Figura I.3.A). Como se pode ver na Figura I.3.B, as paredes

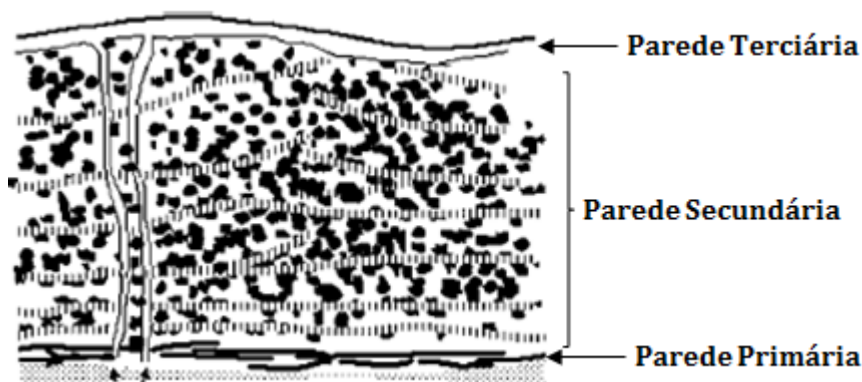
laterais estão frequentemente enrugadas devido à compressão a que as células estão sujeitas durante o crescimento em espessura.



**Figura I.3. A estrutura celular da cortiça vista no plano tangencial (A) e transversal (B) [8]**

Após a sua diferenciação, cada célula fica praticamente reduzida apenas à sua parede celular, sendo o conteúdo do protoplasto celular maioritariamente absorvido durante o processo de suberificação.

As principais características que tornam a cortiça num material tão interessante do ponto de vista tecnológico residem ao nível da estrutura e composição química da parede celular, que é constituída por três camadas, como se pode ver na Figura I.4. A parede primária é constituída por polissacarídeos e lenhina, a parede secundária é mais espessa e constituída por suberina e polifenóis associados, e a parede terciária fina é constituída por polissacarídeos e lenhina.



**Figura I.4. Representação esquemática da parede celular da cortiça [8]**

É necessário realçar a importância da camada intermédia suberosa. Esta camada, sendo a mais espessa, é também aquela que tem maior influência sobre as propriedades das paredes celulares e, em última análise, sobre o comportamento das cortiças. É devido a esta camada que se dá o espessamento das paredes celulares. Este espessamento distingue o crescimento de princípio de

estação em que a camada apresenta células de paredes mais finas, do crescimento de fim de estação com células de paredes mais espessas. Outro aspecto que particulariza esta camada é a sua composição química, a suberina, principal constituinte das paredes celulares. A suberina é uma mistura de ácidos orgânicos que se apresenta sob a forma de gordura ou que, pelo menos, tem uma certa analogia com os corpos gordos. As propriedades da suberina são notáveis: é praticamente infusível, é insolúvel na água, no álcool, no éter, no clorofórmio, no ácido sulfúrico concentrado, no ácido clorídrico, entre outros [7].

Além da suberina, a composição química da cortiça engloba vários compostos, em que se apresentam os valores médios [7]:

- Suberina (45%) – o principal componente das paredes da cortiça e responsável pela resiliência da mesma;
- Lenhina (27%) – o componente de ligação;
- Polissacáridos (12%) – os componentes das células da cortiça que permitem definir a textura da cortiça;
- Taninos (6%) – os polifenóis responsáveis pela cor;
- Ceróides (5%) – hidrófilos que asseguram a impenetrabilidade da cortiça;
- Restantes 4% - água mineral, glicerina e outros componentes.

### **I.1.3 Processamento da cortiça**

A cortiça, quando é retirada da árvore, processo designado por descortiçamento, não tem a elasticidade necessária para ser tratada e, além disso, traz consigo fungos e insectos [9].

Toda a cortiça destinada ao processamento industrial, nomeadamente para o fabrico de rolhas, deve ser sujeita a uma fase de preparação cujo objectivo principal é melhorar as características mecânicas, bem como a forma das pranchas. Isto é conseguido principalmente através da cozedura da cortiça.

Quando as pranchas de cortiça chegam a uma unidade industrial são deixadas ao ar livre, entre três meses e um ano, de acordo com a capacidade dos industriais para manter um *stock*. Este tempo de repouso tem por objectivo a secagem lenta das pranchas para estabilização dimensional e secagem do “verde”, termo usado para designar o excesso de humidade (400-500%). Ao fim deste período de estabilização, antes da cozedura, as cortiças são separadas em fardos de acordo com a sua espessura e qualidade.

A cozedura da cortiça tem por objectivos limpar a cortiça, extrair-lhe as substâncias hidrossolúveis, aumentar a sua espessura e, assim, reduzir da sua densidade e, por fim, torná-la mais macia e

elástica. Durante este processo, o gás contido dentro das células expande-se, aumentando o seu volume em cerca de 20% o que torna a cortiça numa estrutura mais manuseável.

As águas de cozedura de cortiça são complexas misturas de extractos vegetais que têm aspecto de um licor escuro castanho. Apresentam uma elevada carga orgânica e considerável toxicidade devido à extracção a quente que ocorre no processo de cozedura, ocorrendo a solubilização de substâncias hidrossolúveis. Entre outros compostos naturais, estas águas apresentam concentrações elevadas de polifenóis como sejam ácidos fenólicos, taninos, 2,4,6-tricloroanisol, pentaclorofenol, ácido benzóico e ácidos cinâmicos (Benitez et al., 2003) [10]. Segundo Minhalma e Pinho (2001) [7], os ácidos fenólicos mais abundantes na água de cozedura de cortiça são os ácidos gálico, protocatéquico, vanílico, siríngico, ferúlico e elágico.

Segue-se um período de repouso após a cozedura da cortiça para se conseguir o aplanamento das pranchas de cortiça, a estabilização dimensional e a redução de humidade. Agora, a cortiça está pronta para ser trabalhada, depois de sofrer uma triagem por espessura [9].

Na Figura I.5., estão descritos os principais passos do processamento da cortiça, desde o descortiçamento até ao seu transporte para o cliente ou intermediário.

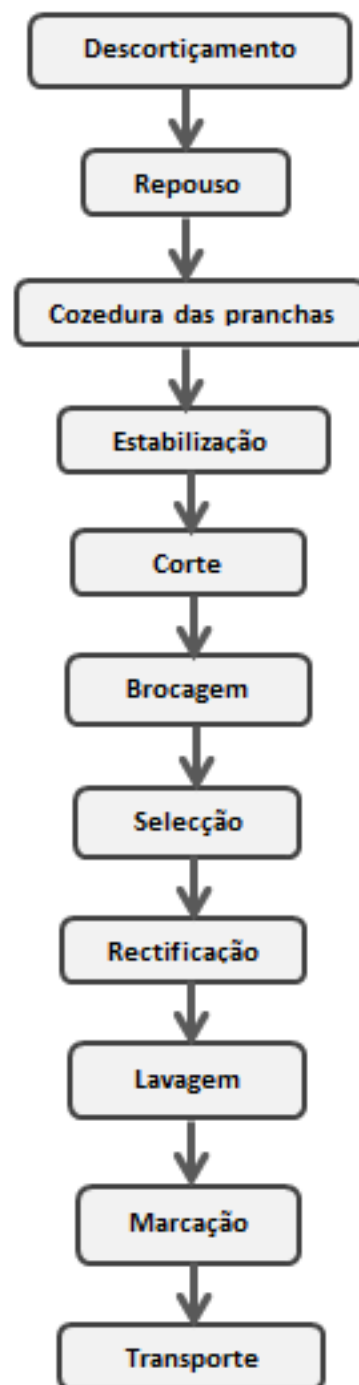


Figura I.5. Etapas do processamento industrial da cortiça

#### I.1.4 A empresa Fabricor



A Fabricor Indústria Preparação e Transformação de Cortiça S.A., uma empresa dinâmica e inovadora, teve como objectivo na sua constituição, a preparação e a transformação de cortiça. É uma empresa com cerca de duas décadas de existência, solidamente implementada no mercado nacional e internacional, onde 50% da sua quota de mercado se destina à exportação.

Actualmente e desde o ano 2000, a empresa possui uma única fábrica em Alcochete, no distrito de Setúbal, com equipamento e metodologia de trabalho completamente inovadores (Figura I.6.).



**Figura I.6. Equipamento utilizado na Fabricor S.A.**

É, também, importante realçar as preocupações ambientais desta instalação, reflectidas na utilização de biomassa e pó de cortiça como únicas fontes de combustível. Além disso, possui um laboratório interno de controlo de qualidade e desenvolvimento, que conta com o mais sofisticado e moderno equipamento do sector laboratorial e com uma equipa técnica especializada.

Na empresa Fabricor, a cozedura da cortiça é realizada com um sistema de cozedura mais moderno (Figura I.7.).





**Figura I.7. Sistema de cozedura de cortiça na empresa Fabricor S.A.**

Neste novo sistema, os materiais de construção são mais adequados e o sistema executa um processo de tratamento e recirculação de águas que não são aproveitáveis e são automaticamente rejeitadas. Este sistema é adequado às maiores exigências do mercado e elimina TCA (2,4,6-tricloroanisol), compostos orgânicos voláteis, taninos e fenóis.

Nesta empresa, o processo de cozedura é feito em dois tanques, aproximadamente a 100°C. São realizados 12 ciclos de cozedura alternados pelos dois tanques. A cada dia de produção são processadas 22 toneladas de prancha de cortiça, sendo que a mesma água é utilizada durante 3 dias. O consumo de água é aproximadamente de 104 m<sup>3</sup> por cada 3 dias de produção. Para minimizar a carga orgânica e resíduos sólidos da água de cozedura, esta é submetida a um processo de filtração ao fim de cada ciclo.

## I.2 Radiação

As radiações podem ser geradas por fontes naturais ou por dispositivos construídos pelo homem, possuindo valores de energia variáveis.

A radiação é classificada em duas categorias: ionizante e não ionizante, dependendo da sua habilidade em ionizar a matéria [11]. O potencial de ionização dos átomos, isto é, a energia necessária para remover um electrão de um átomo formando um ião, varia desde poucos eV para os elementos alcalinos até 24,6 eV para o hélio [11].

- **Radiação não ionizante** – não pode ionizar a matéria porque a sua energia é mais baixa do que a energia de ionização dos átomos e moléculas do material absorvente. Como exemplos desta radiação pode-se referir a radiação ultravioleta, a luz visível, os fotões infravermelhos e as microondas;
- **Radiação ionizante** – pode ionizar a matéria, pois a sua energia é superior à energia de ionização dos átomos e moléculas. Exemplos deste tipo de radiação são a radiação gama, radiação beta, raios X e partículas alfa.

Ao interagir com a matéria, a radiação pode provocar múltiplos efeitos. Os efeitos químicos da radiação dependem da composição da matéria e da quantidade de energia depositada pela radiação.

### I.2.1 Radiação Ionizante

Pelas suas propriedades, a radiação ionizante tem a capacidade de interagir com a matéria, quebrando as ligações químicas das moléculas e arrancando electrões dos átomos após as colisões. Isto faz com que estes se tornem carregados ou ionizados [12].

Além da capacidade de ionização, a radiação ionizante é muito mais penetrante quando comparada com os outros tipos de radiação. As radiações do tipo X e gama são as mais penetrantes e, dependendo da sua energia, podem atravessar vários metros no ar e alguns centímetros em tecido humano e têm dificuldades de blindagem. Deste modo, estas radiações são muito utilizadas em radiografias e no controlo dos níveis de materiais contidos em silos de paredes espessas. Contrariamente, as radiações beta são pouco penetrantes, podendo atravessar até alguns metros no ar e milímetros em tecido humano. Por outro lado, as partículas alfa têm fácil blindagem e possuem um poder de penetração muito pequeno, uma vez que só atingem alguns centímetros no ar e alguns micrómetros em tecido biológico.

A radiação ionizante é classificada em dois tipos, directa e indirecta, de acordo com o modo de ionização [11].

- **Radiação ionizante directa** - Abrange partículas carregadas (electrões, protões, partículas  $\alpha$  e iões pesados) que depositam a energia na matéria através de um único passo directo envolvendo interacções de Coulomb entre as partículas carregadas ionizantes e as orbitais electrónicas dos átomos da matéria absorvente.
- **Radiação ionizante indirecta** - Compreende partículas neutras (fotões, como raios X e raios  $\gamma$ , neutrões) que depositam a energia na matéria através de um processo de duas etapas da seguinte forma:
  - Na primeira etapa, uma partícula carregada é libertada na matéria (os fotões libertam electrões ou pares de electrões/positrões e os neutrões libertam protões ou iões pesados);
  - Na segunda etapa, as partículas carregadas libertadas depositam a energia na matéria por meio de interacções de Coulomb directas com as orbitais electrónicas dos átomos da matéria.

A radiação ionizante tem inúmeras aplicações, mas pode representar um perigo se for usada sem cuidado e inoportunamente [11]:

- Na medicina, para tratamento de cancro em radioterapia e para esterilização de material médico, bem como para diagnósticos radiológicos;
- Nos reactores nucleares, para investigação e para produção de radionuclídeos usados na medicina e indústria;
- Na indústria alimentar, para irradiar alimentos como carne, peixe, fruta, vegetais e sementes para matar bactérias, fungos e parasitas, para retardar o processo de amadurecimento e para aumentar o tempo de vida;
- Na gestão de resíduos, onde o lixo hospitalar e o lodo do esgoto doméstico são irradiados com o objectivo de matar microrganismos patogénicos e bactérias causadoras de doenças antes do seu lançamento no meio ambiente;
- Na indústria química, onde a radiação produz modificações químicas de materiais industriais como polímeros e borracha usada em pneus vulcanizados.

## I.2.2 Interacção de fótons com a matéria

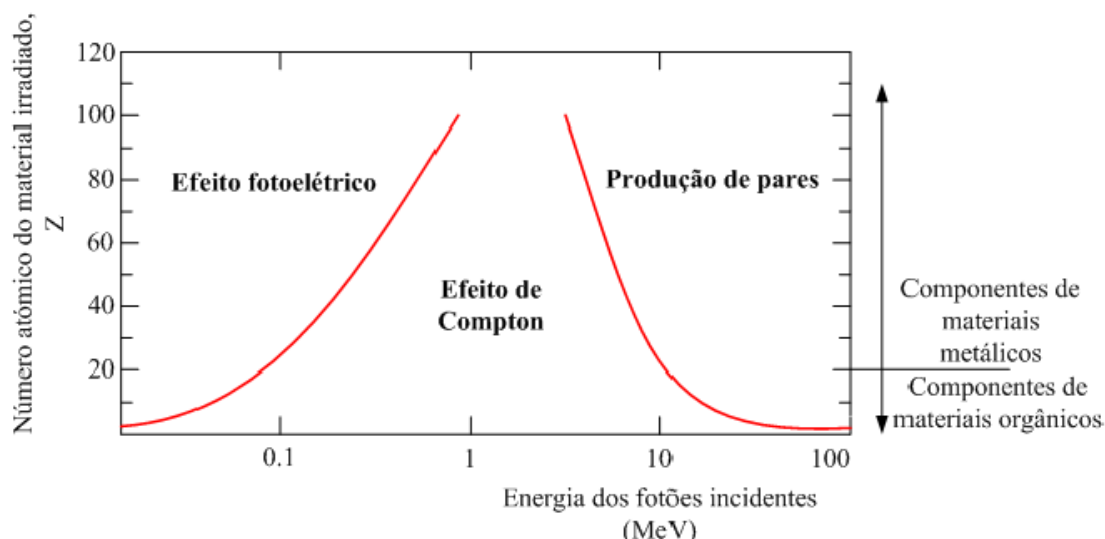
Na faixa de energias que inclui os raios X e gama, existem várias interacções possíveis com o átomo, com electrões atómicos ou com o núcleo. Um raio gama pode atravessar um corpo sem que ocorram interferências ou pode atingir um átomo e fornecer-lhe toda a sua energia ou parte dela. Normalmente atinge um electrão do átomo, ionizando-o. O electrão usa a energia que recebe do raio gama criando iões adicionais quando atinge electrões de outros átomos [13].

As probabilidades de interacção dependem das características do meio e da radiação e a radiação ionizante é normalmente analisada como um conjunto de partículas chamadas fótons.

Os fótons têm uma natureza dupla: têm propriedades de partículas e de ondas. As propriedades das partículas são as suas interacções por colisões elásticas e inelásticas. As propriedades das ondas são a reflexão, refacção, dispersão, difracção e polarização. Assim, as propriedades gerais dos fótons são: propagam-se através do espaço em forma de ondas representadas pela oscilação de dois campos, um eléctrico e outro magnético, com comprimentos de onda iguais e perpendiculares um ao outro; a velocidade de propagação é a velocidade da luz no vácuo,  $c=3 \times 10^8$  m/s, propagando-se também no vácuo; e transportam energia e momento [14].

Existem cinco tipos de interacções na matéria com fótons: **Efeito Fotoeléctrico**, **Efeito de Compton**, **Produção de Pares**, **Dispersão de Rayleigh** e **Interacção Fotonuclear**, sendo os três primeiros os mais importantes, uma vez que resultam de energia transferida aos electrões [15].

A importância relativa e a eficiência de cada processo dependem da energia dos fótons e do número atómico,  $Z$ , do meio absorvente [15]. A Figura I.8. mostra as regiões em que cada interacção predomina.



**Figura I.8. Relevância dos mecanismos de interação da radiação com a matéria, de acordo com o número atômico Z do material e com a energia dos fótons incidentes [16]**

Como se pode ver pela Figura I.8., o efeito Compton predomina para todos os elementos da tabela periódica se as energias de fótons estão entre algumas centenas de KeV e alguns MeV e predomina para todas as energias se os números atômicos são baixos. Para números atômicos elevados, o efeito fotoelétrico é o mais provável para energias baixas e a produção de pares para energias elevadas.

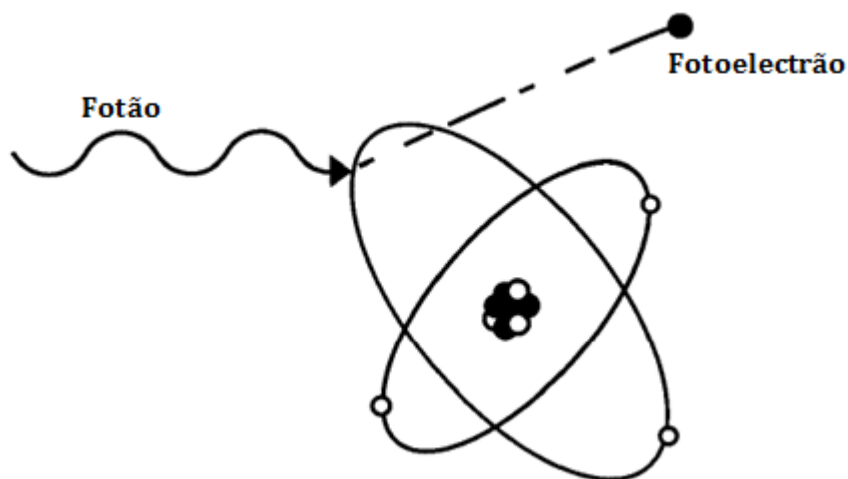
### ***1.2.2.1 Efeito Fotoelétrico***

Para explicar o efeito fotoelétrico, Einstein propôs que a luz incidente chega em fótons com uma energia  $E=h\nu$ , onde  $h$  é a constante de *Planck*. Além disso, assumiu também que um fotoelectrão é produzido quando um fóton é absorvido completamente por um electrão [17].

A energia cinética ( $E_e$ ) do fotoelectrão emitido é dada pela diferença entre a energia do fóton incidente e a sua energia de ligação [17]:

$$E_e = h\nu - U_i \quad (\text{I.1})$$

Depois do fotoelectrão ser ejetado (Figura I.9.), ocorrem muitos fenómenos para preencher a lacuna deixada por ele. São emitidos fótons ou electrões de *Auger*, cujas energias e probabilidades de emissão dependem fortemente do material alvo.



**Figura I.9. Interação fotoelétrica, em que o fóton desaparece e é substituído por um electrão ejectado do átomo [18]**

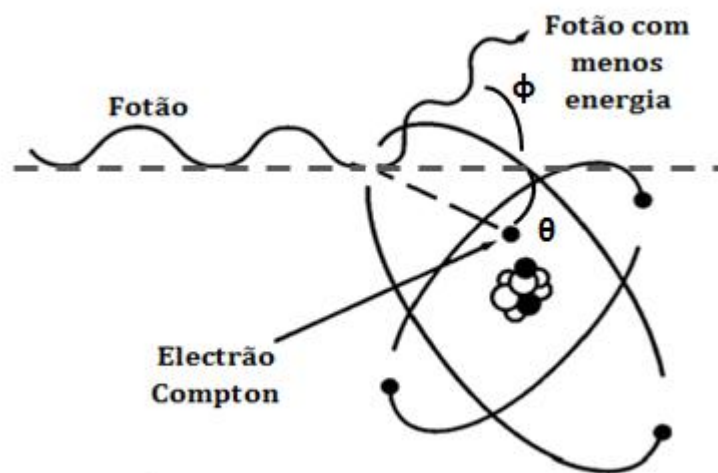
Este fotoelectrão cede a sua energia ao meio, produzindo a ionização e excitação dos seus átomos.

A probabilidade de produção de um fotoelectrão quando a luz atinge um átomo é proporcional à densidade do meio que está a ser atravessado, crescendo também com o número atómico dos elementos que constituem o meio (com  $Z^4$ ) [17]. Porém, o efeito diminui rapidamente com o aumento da energia do fóton (com  $1/E^3$ ) [17].

#### ***1.2.2.2 Efeito Compton***

À medida que a energia da radiação aumenta, a ocorrência do efeito Compton substitui a do efeito fotoelétrico como principal meio de remoção de fótons do feixe inicial.

Neste fenómeno, a interacção acontece entre o fóton incidente e um dos electrões livres e em repouso do material absorvente [19]. A energia do fóton incidente é muito maior do que a energia de ligação ao electrão. O fóton transfere parte da sua energia para o electrão [19] e, quando a energia adquirida pelo electrão é suficiente, este escapa do átomo ou é excitado para um nível atómico não ocupado (Figura I.10.).

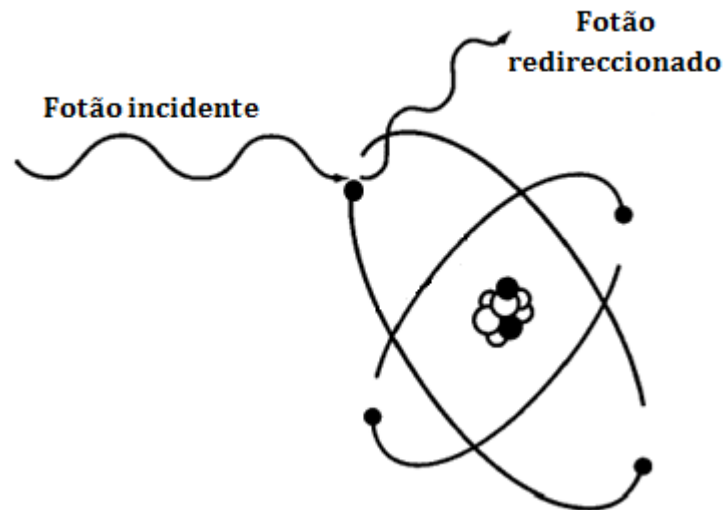


**Figura I.10.** Efeito de Compton de um fóton incidente, com o fóton disperso num ângulo  $\phi$  e o electrão Compton ejectado num ângulo  $\theta$  [18]

A probabilidade da ocorrência de interacção pelo efeito Compton é proporcional à densidade do electrão no meio, mas é independente do número atómico do meio. Quando a energia do fóton aumenta muito essa probabilidade, diminui de densidade electrónica ( $1/E$ ).

### ***1.2.2.3 Dispersão de Rayleigh***

A Dispersão de Rayleigh, também denominada Dispersão Coerente, é uma interacção elástica entre um fóton e um átomo, proposta inicialmente por Lord Rayleigh, em 1871 [20]. Um fóton é absorvido por um electrão pouco ligado, passa para uma orbital mais energética e regressa ao seu estado inicial emitindo um fóton com a mesma energia do fóton incidente (Figura I.11.). Uma vez que o fóton apenas altera a sua trajectória, não existe transferência de energia do mesmo.



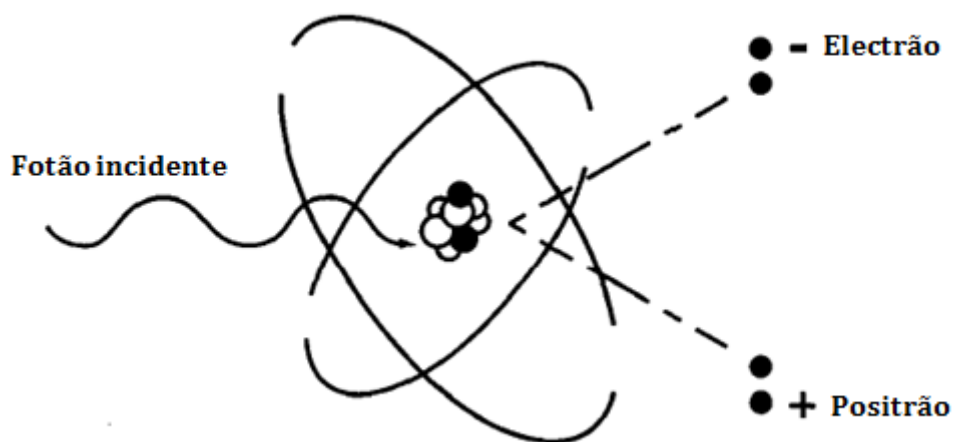
**Figura I.11. Dispersão de *Rayleigh*, em que o fóton é absorvido e irradiado numa direcção diferente sem perda significativa de energia [18]**

Este fenómeno ocorre, principalmente, com fótons de baixa energia em materiais de elevado número atómico.

#### ***1.2.2.4 Produção de Pares***

A produção de pares é o processo mais importante a altas energias e para elementos de grande número atómico.

Quando um fóton com energia superior a 1,022 MeV, isto é, o dobro da energia de repouso do electrão ( $h\nu \geq 2mc^2$ ), interage na vizinhança de um núcleo atómico, este pode desaparecer e dar lugar a um par electrão-positrão (Figura I.12.).



**Figura I.12. Esquema representativo da Produção de Pares, em que o fóton desaparece e dá lugar a um par electrão-positrão [18]**



A probabilidade de ocorrência do fenómeno de formação de pares é proporcional a  $Z^2$  [17], de modo que, para uma dada energia de fotão, a formação de pares aumenta rapidamente com o número atómico do material. Assim, este processo é importante para altas energias e para materiais de elementos pesados [21].

O processo inverso também ocorre quando o electrão e o positrão colidem [17]. O resultado desta colisão é a aniquilação das duas espécies químicas e a criação de dois fotões que se movem em direcções opostas e cuja energia total é igual à da massa das duas partículas aniquiladas. Sendo assim, cada um dos fotões tem uma energia de 0,511 MeV.

A produção de pares também ocorre na vizinhança de partículas leves, como electrões e, por isso, este processo é denominado produção de tripletos.

#### ***1.2.2.5 Interações Fotonucleares***

A principal reacção nuclear provocada por fotões é a fotodesintegração, que não é mais do que um paralelo entre um efeito fotonuclear e o efeito fotoeléctrico.

O fotão com energia superior a poucos MeV é absorvido pelo núcleo, que liberta um protão (reacções  $(\gamma, p)$ ) ou um neutrão (reacções  $(\gamma, n)$ ).

A probabilidade para estas interacções é muito mais pequena quando comparada com as probabilidades combinadas para o efeito fotoeléctrico, efeito Compton e produção de pares. No entanto, ao contrário destes processos, as interacções fotonucleares podem produzir neutrões [17] que colocam, muitas vezes, problemas de protecção radiológica como acontece com os aceleradores de electrões clínicos onde estão envolvidas energias superiores a 10 MeV.

#### **1.2.3 O radioisótopo $^{60}\text{Co}$**

O grande salto no processo de radiação industrial foi dado com o avanço dos reactores nucleares, que são capazes de produzir radioisótopos. Os emissores de raios gama, como o cobalto-60, tornaram-se fontes de radiação comuns para aplicações médicas e industriais. O cobalto-60 é usado, maioritariamente, como fonte de radiação gama para uso industrial, devido ao seu fácil método de produção e da sua insolubilidade em água [22].

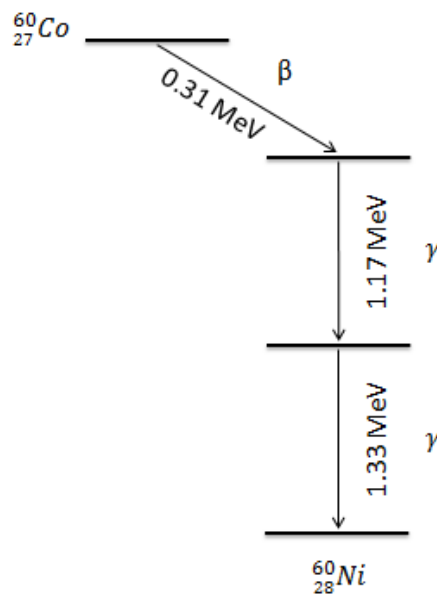
O cobalto (Co) é um metal duro, de cor cinza azulada e pode encontrar-se associado a níquel, prata, cobre e ferro [23].

O cobalto natural contém um único isótopo estável, o cobalto-59. Têm-se caracterizado 22 radioisótopos, sendo os mais estáveis o Co-60, Co-57 e Co-56, com tempos de meia-vida de 5,27 anos, 271,79 dias e 70,86 dias, respectivamente. Os outros isótopos radioactivos apresentam meias-vidas inferiores a 18 horas e a maioria menos de 1 segundo [16].

O processo de desintegração do cobalto-60 é do tipo beta,  $\beta^-$ , e tem como resultado o segundo nível de excitação do níquel-60, na qual é emitido um electrão e um antineutrino [24].



Como consequência do seu decaimento, este isótopo emite dois fotões com energia de 1,17 MeV e 1,33 MeV, respectivamente, como representado na Figura I.13. [24].



**Figura I.13.** Esquema das fases principais do declínio do  ${}^{60}\text{Co}$  [16]

## I.3 Dosimetria

A Dosimetria das Radiações é o ramo da ciência que relaciona quantitativamente medições específicas feitas numa área de radiação com mudanças físicas, químicas e/ou biológicas que possam ser produzidas pela radiação [17]. É usada para a medição de várias quantidades relacionadas com os efeitos da radiação sobre a matéria.

### I.3.1 Grandezas Dosimétricas Fundamentais

#### I.3.1.1 *Kerma (K)*

Kerma é uma grandeza dosimétrica aplicável a radiações ionizantes indirectas, tal como fotões e neutrões. É definido por

$$K = \frac{d\overline{E_{tr}}}{dm} \quad (\text{I.3})$$

Onde  $dE_{tr}$  é a soma de todas as energias cinéticas iniciais das partículas carregadas incidentes num material de massa  $dm$ . A sua unidade é  $\text{J.Kg}^{-1}$  ou Gy.

O kerma inclui toda a energia transferida para as partículas carregadas. No entanto, nem toda esta energia transferida é absorvida pelo meio. Uma pequena parte vai ser irradiada como radiação de travagem e não contribui para a dose absorvida localmente. Deste modo, o valor total do kerma é dividido em duas componentes: o kerma de colisão  $K_c$  e o kerma radioactivo  $K_r$ , definido na expressão seguinte

$$K = K_c + K_r \quad (\text{I.4})$$

O kerma de colisão quantifica a energia que é dissipada pelos electrões ao colidirem com outros electrões através de ionizações e excitações ao longo do seu percurso e o kerma radioactivo quantifica a radiação de travagem produzida enquanto as partículas secundárias são desaceleradas no meio.

#### I.3.1.2 *Dose absorvida (D)*

Dose absorvida é uma grandeza relevante em todos os tipos de radiação ionizante, tanto directa como indirecta e é de grande importância em dosimetria.

É definida como a quantidade de energia média depositada por unidade de massa  $dm$  num volume finito  $V$ .

$$D = \frac{d\bar{E}}{dm} \quad (\text{I.5})$$

A unidade de medida desta grandeza dosimétrica é o  $\text{J.Kg}^{-1}$  ou *Gray* (Gy).

É importante ter em conta que D representa a energia, por unidade de massa, que é depositada na matéria para produzir algum efeito atribuído à radiação.

### ***1.3.1.3 Taxa de Dose Absorvida (D)***

A Taxa de Dose Absorvida, ou Débito de Dose, é definida como:

$$D = \frac{dD}{dt} \quad (\text{I.6})$$

Onde dD é a variação da dose absorvida no intervalo de tempo dt.

No Sistema Internacional, a unidade desta grandeza dosimétrica é  $\text{J.Kg}^{-1}.\text{s}^{-1}$ , sendo  $\text{Gy.s}^{-1}$  a unidade restrita.

## **1.3.2 Sistemas Dosimétricos**

Nas muitas aplicações da radiação ionizante, a dosimetria é importante quer para o controlo do processo de irradiação, no apoio à construção de uma nova instalação de radiação ou em estudos de investigação e desenvolvimento, uma vez que se torna necessário quantificar a dose absorvida num dado meio material [16].

Por dosímetro de radiação designa-se qualquer dispositivo, instrumento ou sistema capaz de fornecer uma leitura que é uma medida da dose absorvida de radiação ionizante num volume conhecido [15].

Para funcionar como um dosímetro de radiação, este deve apresentar diversas propriedades que facilitem o seu uso em processos de irradiação. Entre elas [25]:

1. Resposta linear com a dose absorvida, se possível;
2. Reprodutibilidade adequada;
3. Resposta independente da taxa de dose, da energia da radiação incidente e das condições ambientais, como temperatura, humidade e luz;
4. Resposta em amplo intervalo de dose;
5. Estabilidade de resposta ao longo do tempo, antes e após a irradiação (no intervalo de dose usado);

6. Manuseamento e sistemas de leituras fáceis;
7. Custo baixo.

Para quantificar a dose absorvida, surgiu a necessidade de se desenvolverem dosímetros, que podem ser classificados como dosímetros primários de referência, de referência e de rotina [16].

### ***1.3.2.1 Dosímetros de referência***

Os dosímetros de referência têm uma alta qualidade e, devido à sua elevada precisão, exactidão e reprodutibilidade, são utilizados para calibrar outros dosímetros. Estes dosímetros são capazes de medir directamente a dose absorvida ou a grandeza física a ela associada [25]. Os efeitos de parâmetros, como a temperatura de irradiação e a estabilidade após a irradiação, devem ser facilmente caracterizados e superados utilizando factores de correcção.

Existem métodos físicos e químicos para a determinação da dose absorvida. Os métodos físicos incluem a calorimetria, as câmaras de ionização e os semicondutores. Na dosimetria química são de salientar, os dosímetros de Fricke, de alanina, de dicromato, de cérico-ceroso, entre outros [16].

Normalmente, como dosímetros de referência, utilizam-se o dosímetro de Fricke (na gama de doses de 40 a 400 Gy), de cérico-ceroso (no intervalo de doses de  $5 \times 10^2$  a  $5 \times 10^4$  Gy) e de alanina (de 200 a  $2 \times 10^5$  Gy).

De seguida, descreve-se o dosímetro químico de referência de Fricke utilizado no desenvolvimento do trabalho experimental.

#### **1.3.2.1.1 Dosímetro de Fricke**

O Dosímetro de Fricke foi proposto por Fricke e seus colaboradores, em 1972. É um dosímetro químico líquido, composto por sulfato de amónio ferroso ( $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ) numa solução de ácido sulfúrico ( $0,4 \text{ mol.L}^{-1}$ ).

Baseia-se na oxidação radiolítica de iões ferrosos para iões férricos e a dose absorvida é quantificada pela mudança na absorvância num comprimento de onda específico (305 nm), sendo proporcional à concentração de ião férrico formado na oxidação, depois da irradiação.

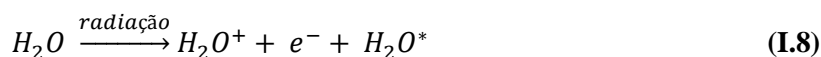


O seu intervalo é entre 40 e 400 Gy [26], sendo que o limite inferior é definido pela sensibilidade do sistema usado para medir a concentração férrica e o limite superior pelo consumo de oxigénio na reacção [27].

A Dosimetria de Fricke implica um conhecimento preciso do rendimento químico de radiação de iões férricos, medidos em moles produzidas por cada joule de energia absorvida na solução [28]. O rendimento químico é definido como *G-value*, isto é, o número de moléculas férricas produzidas na solução de sulfato ferroso por 100 eV de energia absorvida. Este valor é afectado pela energia de radiação, pela taxa de dose e pela temperatura na solução durante a irradiação e a leitura, pelo que são provocados alguns erros que tornam difícil a sua exactidão [28]. O melhor valor de *G-value* para radiação gama de cobalto-60 é 15,6 moléculas por 100 eV, que correspondem a um rendimento químico de  $1,607 \times 10^{-6} \text{ mol.J}^{-1}$  [28].

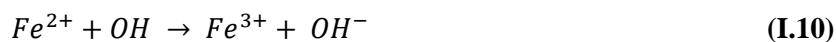
## Mecanismo

O mecanismo da reacção entre a radiação gama e o dosímetro de *Fricke* é o seguinte:



Em que  $H_2O^*$  é a molécula excitada.

Um ião ferroso é oxidado a ião férrico por um radical hidroxilo



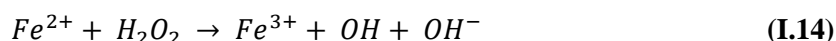
e o átomo de hidrogénio da equação I.9 reage com o oxigénio dissolvido, formando um radical hidroperóxido



que volta a oxidar um ião ferroso



Assim, forma-se o peróxido de hidrogénio que vai produzir o ião férrico.



## Determinação da dose absorvida

Tal como foi dito anteriormente, a dose absorvida é proporcional à concentração de ião férrico formado na oxidação, após irradiação.

A equação base para calcular a dose absorvida na solução dosimétrica é a seguinte [29]:

$$D_F = \frac{\Delta A}{\rho \epsilon G d} \quad (\text{I.15})$$

Onde

$D_F \rightarrow$  Dose absorvida na solução de Fricke (Gy);

$\Delta A \rightarrow$  Variação de absorvância a 305 nm;

$\rho \rightarrow$  Densidade da solução dosimétrica ( $1,024 \times 10^3 \text{ Kg.m}^{-3}$ );

$\epsilon \rightarrow$  Coeficiente de extinção molar ( $\text{m}^2.\text{mol}^{-1}$ );

$G \rightarrow$  Rendimento de radiação química dos iões férricos –  $G(\text{Fe}^{3+})$  ( $\text{mol.J}^{-1}$ );

$d \rightarrow$  Comprimento óptico da solução dosimétrica na cuvete (m).

Para calcular a dose absorvida em água, usa-se a expressão seguinte:

$$D_w = 1,004 D_F \quad (\text{I.16})$$

É recomendado que o valor  $\epsilon G$  a 305 nm seja  $352 \times 10^{-6} \text{ m}^2.\text{J}^{-1}$ . No entanto, esta equação só é válida para temperaturas, de irradiação e durante as medições espectrofotométricas, de 25°C. Para irradiação ou medição de absorvância com temperaturas diferentes de 25°C, o valor de  $\epsilon G$  deve ser corrigido por

$$\epsilon_t G_t = 352 \times 10^{-6} [1 + 0.007 (25 - t)] \times [1 + 0.0015 (25 - t')] \quad (\text{I.17})$$

Em que  $t$  é a temperatura da solução dosimétrica durante a análise espectrofotométrica, em °C, e  $t'$  é a temperatura de irradiação, em °C.

Assim, a equação usada para estimar a dose absorvida,  $D$ , é

$$D = \frac{279,08 \times Abs}{[1 + 0,007 (25 - T_t)] \times [1 + 0,0015 (25 - T_t)]} \quad (\text{I.18})$$

Esta equação é válida para um intervalo de temperatura de irradiação de 10 a 60°C e de temperatura das medições de absorvância de 15 a 35°C [29].

## **Vantagens**

O dosímetro de Fricke é usado como referência e aceite como padrão secundário, uma vez que determina com precisão as doses absorvidas e por ser bastante estável antes e após a irradiação.

Além disso, são bem conhecidos os mecanismos de reacção no soluto irradiado e é equivalente à água e aos tecidos biológicos em relação às propriedades de absorção de fotões e electrões, bem como ao número atómico efectivo e à densidade, apresentando, assim, uma vantagem em relação a outros sistemas dosimétricos.

Por outro lado, este dosímetro apresenta uma grande facilidade de processamento e um baixo custo operacional.

## **Limitações**

A solução de Fricke é extremamente sensível a impurezas, em especial a impurezas orgânicas, podendo provocar alterações nas respostas observadas. Assim, para que os resultados sejam da maior exactidão, é importante que não sejam usados materiais orgânicos para nenhum componente que entre em contacto com a solução [29].

Na ausência de radiação, à temperatura ambiente, pode ocorrer oxidação se o tempo entre a preparação da solução e da medição for muito longo. Isto provoca um aumento na absorvância da solução não irradiada. Além disso, a solução é sensível à luz e, por isso, deve ser mantida no escuro durante o tempo de armazenamento [29].

É de notar que a resposta é sensível à temperatura de irradiação.

Por outro lado, o dosímetro de Fricke tem uma resposta linear com a radiação entre os 40 e os 400 Gy, limitando bastante a sua utilização na elaboração do mapeamento de taxa de dose em unidades industriais, onde a actividade das fontes é elevada e os valores da dose absorvida são superiores aos 400 Gy.

### ***1.3.2.2 Dosímetros de rotina***

Os dosímetros de rotina não apresentam qualidades tão boas como as dos dosímetros de referência. No entanto, o custo e a facilidade de utilização tornam-nos adequados para as medições do dia-a-dia, podendo ser usados para determinar a dose absorvida nos materiais, detectar variações no campo de irradiação, mapear a dose no local da irradiação e nas embalagens que contêm produtos a serem irradiados garantindo a qualidade da irradiação. Os dosímetros de rotina devem apresentar uma resposta rápida.



São usados dosímetros de rotina de polimetilmetacrilato (PMMA) com gamas de dose variável e os filmes radiográficos finos (0,5 a 4 Gy). Dosímetros PMMA comuns são o *Red-Perspex* (*Harwell dosimeters*) que pode ser utilizado numa gama de dose absorvida de 5 a 50 kGy e o *Amber Perspex* que pode ser usado numa gama de dose absorvida de 1 a 30 kGy [28].

#### I.3.2.2.1 Dosímetros de Polimetilmetacrilato

Os dosímetros de polimetilmetacrilato (PMMA) tornaram-se mais frequentes na dosimetria de rotina a altas taxas de dose no âmbito industrial. As principais vantagens deste método são a sua robustez, estabilidade, simplicidade e baixo preço e apresentam as propriedades descritas na Tabela I.1. [30] [31].

**Tabela I.1. Propriedades dos dosímetros de PMMA (*Red Perspex* e *Amber Perspex*)**

	<b>Red 4034</b>	<b>Amber 3042</b>
<b>Alteração da cor</b>	Vermelho – Vermelho escuro	Âmbar - Castanho
<b>Espessura Nominal</b>	$3 \pm 0,55$ mm	
<b>Comprimento de onda</b>	640	603 e 651 nm
<b>Reprodutibilidade</b>	$\leq 2\%$	
<b>Vida útil</b>	$\geq 10$ anos	
<b>Tamanho</b>	30 x 11 mm	

#### Determinação da dose absorvida

A interacção da radiação ionizante com os dosímetros de PMMA produz radicais livres que afectam sua densidade óptica em determinados comprimentos de onda [30]. A radiação também provoca alterações na coloração dos dosímetros, sendo que quanto maior a dose, mais escuro é o dosímetro. A espessura dos dosímetros é usada como factor de correcção no cálculo da dose, que é dado pela seguinte equação:

$$Dose (kGy) = A + B_1x + B_2x^2 + B_3x^3 + B_4x^4 \quad (I.19)$$

Em que A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, e B<sub>4</sub> são os coeficientes obtidos na calibração dos dosímetros para os comprimentos de onda específicos e x é o quociente entre a absorvância e a espessura (cm<sup>-1</sup>).

## I.4 Antioxidantes

### I.4.1 Espécies Reactivas

Devido à sua configuração electrónica, o oxigénio tem uma forte tendência para receber electrões. As moléculas orgânicas e inorgânicas e os átomos que contêm um ou mais electrões desemparelhados, com existência independente, podem ser classificados como radicais livres [32]. São moléculas altamente instáveis, com tempo de meia-vida muito curto e, quimicamente, são muito reactivas e podem reagir com proteínas, lípidos, carboidratos e DNA [33]. Os radicais livres podem ser derivados do oxigénio (espécies reactivas de oxigénio – ROS) ou derivados do azoto (espécies reactivas de azoto – RNS) [33].

Espécies reactivas de oxigénio (ROS, do inglês *Reactive Oxygen Species*) é um termo colectivo usado no meio científico para designar os radicais e não radicais derivados do oxigénio. São formadas e degradadas por todos os organismos aeróbicos, levando a concentrações fisiológicas necessárias para o funcionamento normal da célula, ou a quantidades excessivas, causando danos oxidativos à célula [34]. Há relações entre os elevados valores destas espécies e a danificação do DNA, as doenças de coração e de cancro e outras doenças crónicas e degenerativas [35].

As espécies reactivas de oxigénio incluem um grande número de moléculas quimicamente reactivas derivadas do oxigénio, entre elas: o superóxido ( $O_2^-$ ), o hidroxilo ( $OH^-$ ), radical hidroperóxido ( $HO_2$ ), o peróxido ( $ROO^\bullet$ ) e o alcóxido ( $RO^\bullet$ ) como radicais livres e o peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) como não radical. As espécies reactivas de azoto são principalmente o óxido nítrico ( $NO^-$ ), o dióxido de azoto ( $NO_2$ ) e o trióxido de diazoto ( $N_2O_3$ ) [33]. Algumas destas moléculas são extremamente reactivas, como é o caso do radical hidroxilo, enquanto outras são menos reactivas. O radical superóxido, gerado a partir do oxigénio molecular pela adição de um electrão, é um radical livre pouco reactivo, porque tem pouca habilidade para penetrar nas membranas celulares e, portanto, fica preso no compartimento onde é produzido. Radicais superóxido são rapidamente dismutados pelas enzimas: superóxido dismutase mitocondrial (Mn-SOD), superóxido dismutase citoplasmática (Cu, Zn-SOD) e superóxido dismutase extracelular (EC-SOD), produzindo peróxido de hidrogénio [34].

Estas espécies podem ser formadas a partir de fontes endógenas ou exógenas. As fontes endógenas designam as que são produzidas pelo próprio organismo como produto de uma determinada reacção metabólica, como a actividade mitocondrial e a actividade de algumas enzimas. As fontes exógenas são as provenientes das condições do meio externo ao sistema biológico, como o tabaco,

a poluição do ar, os solventes orgânicos, a dieta, os anestésicos, os pesticidas e as radiações gama e ultravioleta [36].

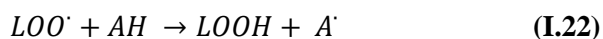
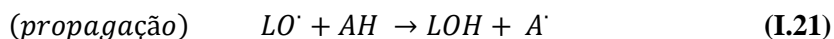
#### I.4.2 Compostos Antioxidantes

Segundo Sies & Stahl (1995) [37], antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada à do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz”. Assim, os antioxidantes são compostos capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis. A sua principal característica é a capacidade de interceptar radicais livres.

Podem ser divididos em duas classes: com actividade enzimática e sem actividade enzimática [38]. A primeira refere-se aos compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reactivas ao oxigénio. A segunda classe refere-se a moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reacção. Incluem-se os antioxidantes naturais e sintéticos como os compostos fenólicos, que protegem as células contra efeitos danosos das espécies reactivas de oxigénio, como o oxigénio singlete, superóxido, os radicais peroxilo e os radicais hidroxilo.

Tendo em conta o seu modo de acção, os antioxidantes podem ser classificados em primários (ou de quebra de cadeia) e secundários (ou preventivos) [39].

Os antioxidantes primários actuam interrompendo a cadeia da reacção através da doação de electrões ou hidrogénio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lípidio-antioxidante que pode reagir com outro radical. Estes mecanismos de quebra de cadeia podem ser representados por [39]



Assim, os passos de iniciação radical (reagindo com um radical lípido,  $L^{\cdot}$ ) ou propagação (reagindo com um radical alcóxido,  $LO^{\cdot}$  ou com um radical peróxido,  $LOO^{\cdot}$ ) são inibidos pelo antioxidante AH.

Por outro lado, os antioxidantes secundários actuam retardando a etapa de iniciação da autooxidação por diferentes mecanismos que incluem complexação de metais, sequestro de oxigénio,

decomposição de hidroperóxidos para formar espécie não radicalar, absorção da radiação ultravioleta ou desactivação de oxigénio singlete [38].

#### ***1.4.2.1 Compostos Fenólicos***

Os compostos fenólicos são substâncias que possuem anel aromático, com um ou mais substituintes hidroxilo, incluindo os seus grupos funcionais. Estes compostos têm a capacidade de doar átomos de hidrogénio e, portanto, inibir as reacções em cadeia provocadas pelos radicais livres [32]. É nesta capacidade que se centra, actualmente, o interesse no estudo dos compostos fenólicos.

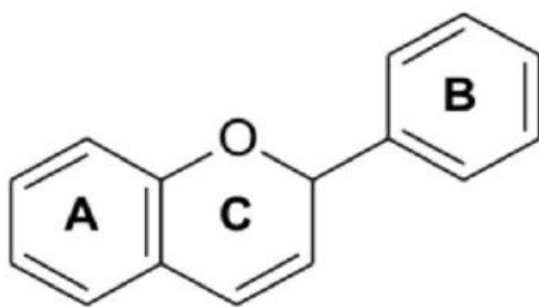
A actividade antioxidante destes compostos, ou seja, a capacidade que estes têm para “captar” radicais livres, doar átomos de hidrogénio ou electrões ou quelatar catiões metálicos, depende da sua estrutura e, em particular, do número e das posições dos grupos hidroxilo e da natureza das substituições nos anéis aromáticos [40].

Os antioxidantes fenólicos agem tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os produtos intermediários formados pela acção destes antioxidantes são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias [41].

Em 1968, Ribéreau-Gayon classificou estes compostos em três categorias: pouco distribuídos na natureza, polímeros e largamente distribuídos na natureza. Na família dos compostos fenólicos pouco distribuídos na natureza, encontra-se um número reduzido mas muito frequente de compostos, onde se incluem os fenóis simples como o pirocatecol e a hidroquinona e os aldeídos derivados dos ácidos benzóicos que constituem os óleos essenciais, como a vanilina. Os polímeros são alguns fenólicos que não se apresentam na forma livre nos tecidos vegetais, como os taninos e as ligninas. Na família dos compostos largamente distribuídos na natureza estão os compostos fenólicos encontrados geralmente em todo o reino vegetal, embora possam estar localizados apenas numa planta. Este grupo divide-se em flavonóides (antocianinas, flavonóis e seus derivados), ácidos fenólicos (ácidos benzóicos, cinâmicos e seus derivados) e cumarinas [38].

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontecem na natureza. Destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis [38].

Os flavonóides são compostos de baixo peso molecular, possuindo uma estrutura básica formada por  $C_6-C_3-C_6$  (Figura I.14.). Consiste em dois anéis aromáticos (A e B), unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico (C) [37]. O grupo dos flavonóides também é conhecido como polifenólicos.



**Figura I.14. Estrutura química dos flavonóides [37]**

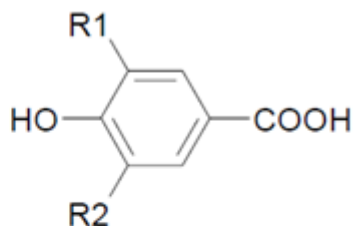
Dependendo do lugar, número e combinação dos grupos participantes da molécula, encontram-se dentro deste grupo as antocianidinas, flavonas, flavonóis e, com menor frequência, as auronas, calconas e isoflavonas [41].

Os taninos possuem peso molecular relativamente alto, constituem uma classe de polifenóis e, segundo a estrutura química, são classificados em taninos hidrolisáveis e taninos condensáveis. Os taninos hidrolisáveis são ésteres de ácido gálico e elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato onde os grupos hidroxilo do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos. Os taninos condensados, que se encontram em maior quantidade em alimentos, apresentam uma estrutura semelhante aos flavonóides com uma cor avermelhada e denominam-se proantocianidinas [42].

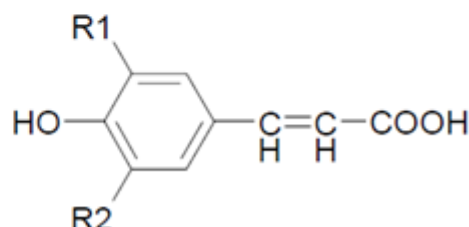
Os tocoferóis são compostos monofenólicos e estão agrupados em duas séries de compostos que possuem estrutura química semelhante e recebem o nome de tocóis, que apresentam uma cadeia saturada ligada ao anel, e tocotrienóis, que possuem cadeia insaturada.

Os ácidos fenólicos caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um grupo carboxílico e um ou mais grupos hidroxilo e/ou metoxilo na molécula, que lhes conferem propriedades antioxidantes. São divididos em dois grupos: o primeiro é composto pelos derivados do ácido hidroxibenzóico e o segundo pelos derivados do ácido hidroxicinâmico. Os ácidos hidroxibenzóicos possuem um grupo carboxílico ligado ao anel aromático e incluem ácido gálico, p-hidroxibenzóico, protocatéquico, vanílico e sirínico, que têm uma estrutura comum  $C_6-C_1$ . Os ácidos hidroxicinâmicos são compostos aromáticos com três carbonos que formam uma cadeia lateral ( $C_6-C_3$ ), como o ácido caféico, ferúlico, p-cumárico e sinápico [38]. Estas estruturas estão representadas na Figura I.15.

R1	R2	Ácidos Benzóicos
H	H	<i>p</i> -hidroxibenzóico
OH	H	Protocatéquico
OH	OH	Gálico
OCH <sub>3</sub>	H	Vanílico
OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Siríngico



R1	R2	Ácidos Cinâmicos
H	H	<i>p</i> -cumárico
OH	H	Caféico
OCH <sub>3</sub>	H	Ferúlico
OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Sinápico

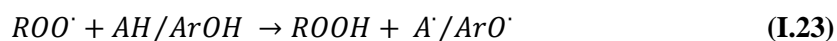


**Figura I.15.** Estrutura química dos ácidos benzóicos e cinâmicos [37]

#### ***1.4.2.2 Mecanismos de reacção dos antioxidantes***

Tendo em conta as reacções químicas envolvidas, os antioxidantes podem desactivar os radicais por dois mecanismos diferentes: mecanismos baseados na transferência do átomo de hidrogénio (HAT, do inglês *Hydrogen Atom Transfer*) e mecanismos baseados na transferência de electrão (SET, do inglês *Single Electron Transfer*). Atendendo ao mecanismo, o resultado final é o mesmo, mas as cinéticas e o potencial para reacções laterais diferem [43]. Em alguns casos, estes dois mecanismos não podem ser diferenciados com limites distintos [39] e o mecanismo dominante será determinado pelas propriedades e estrutura do antioxidante, solubilidade, coeficiente de partição e solvente [43].

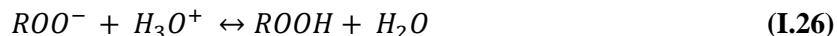
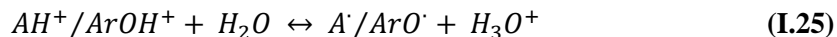
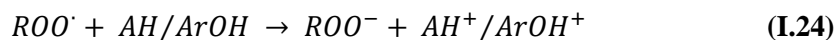
Os métodos baseados na transferência do átomo de hidrogénio (HAT) medem a capacidade de um antioxidante eliminar radicais livres (geralmente radicais peroxilo) pela doação de hidrogénio [43]. O mecanismo de acção antioxidante, em que o átomo de hidrogénio de um fenol (Ar-OH) é transferido para um radical ROO<sup>•</sup>, pode ser resumido pela reacção seguinte [39]



Onde o radical ArO<sup>•</sup>, formado pela reacção do fenol antioxidante com o radical peroxilo, é estabilizado por ressonância.

Estas reacções não dependem do solvente nem do pH da solução e costumam ser rápidas, normalmente demorando entre segundos e alguns minutos [43].

Os métodos baseados na transferência de electrão (SET) medem a capacidade de um antioxidante transferir um electrão para reduzir um composto, incluindo metais, carbonilos e radicais, que muda de cor quando é reduzido [43]. O mecanismo de acção antioxidante é baseado nas reacções [39]



As reacções são relativamente mais lentas do que as do método anterior e são dependentes do solvente e do pH da solução, sendo que os valores de pH têm um efeito importante na capacidade redutora de antioxidantes [44].

A contribuição de um ou outro mecanismo depende da natureza do solvente e/ou do potencial redox das espécies envolvidas. Geralmente, para solventes apolares, predomina o mecanismo de transferência de hidrogénio, mas para solventes polares (como metanol e etanol) que são capazes de formar ligações de hidrogénio fortes com as moléculas de antioxidantes, o mecanismo de transferência de electrão torna-se mais importante [45].

#### 1.4.2.3 Radiólise da água

Numa célula normal, existem balanços apropriados entre oxidante e antioxidante. No entanto, estes balanços podem ser deslocados quando a produção de espécies aumenta ou os níveis de antioxidantes diminuem [33]. Este estado é chamado de *stress* oxidativo e resulta no dano de biopolímeros como ácidos nucleicos, proteínas, ácidos gordos polinsaturados e carboidratos. A peroxidação lipídica é a deterioração oxidativa de lípidos polinsaturados e envolve espécies reactivas de oxigénio e iões de metais de transição. O *stress* oxidativo causa sérios danos celulares, que levam a muitas das principais doenças dos humanos, como Alzheimer, Parkinson, cancro, insuficiência imunológica e desordens neurodegenerativas [33].

Como consequência da interacção entre a radiação ionizante e a água são formadas moléculas electronicamente excitadas ou ionizadas [46]. A este fenómeno dá-se o nome de radiólise da água.



Os efeitos provocados pela radiação gama dependem, essencialmente, do débito de dose e da dose absorvida.

Ao interagir com a água, a radiação gama provoca uma ruptura das ligações covalentes das moléculas devido à transferência de energia do fotão ou pode ejectar electrões dos átomos após as

colisões. Esta ruptura vai levar à formação de radicais livres ( $\text{OH}^\cdot$ ,  $e_{aq}^-$ ,  $\text{H}^\cdot$ ) e produtos moleculares ( $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) [46].



Estes radicais reagem entre si ou com outros compostos presentes na matriz, levando a alterações na sua estrutura e levando à produção de outras espécies, como o radical hidroxilo altamente reactivo ( $\text{OH}^\cdot$ ):



A formação de radicais livres causa oxidação química e *stress* oxidativo, situação em que ocorre um aumento significativo na produção de radicais livres, levando a um desequilíbrio entre as espécies reactivas de oxigénio e os compostos antioxidantes que os combatem.

Na presença de oxigénio na água, as espécies redutoras, os átomos de hidrogénio e  $e_{aq}^-$  são convertidos a espécies oxidantes, radicais perhidroxilo ( $\text{HO}_2^\cdot$ ) e anião superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ). Estes radicais poderiam modificar as propriedades moleculares das proteínas e lípidos causando modificações oxidativas das proteínas e peroxidação de lípidos. As alterações químicas das proteínas que são causados por radiação gama são fragmentação, *cross-linking*, agregação e oxidação provocada pelos radicais de oxigénio que são gerados pela radiólise da água [47].

Uma função importante dos antioxidantes para com os radicais livres é suprimir a oxidação do radical livre através da inibição da formação de radicais livres e/ou pela captura de radicais. A formação destes pode ser inibida pela redução de hidroperóxidos e peróxido de hidrogénio e pelo sequestro de iões metálicos através de reacções de complexação/quelação. A acção de captura do radical é dependente da reactividade e da concentração do antioxidante [39].



## **CAPÍTULO II**

### **II. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **II.1 Recolha das amostras**

A recolha das amostras é realizada uma única vez (por se considerar ser representativa do que acontece neste tipo de indústria) em Junho de 2011, numa empresa de transformação de cortiça, Fabricor S.A., em Alcochete. A recolha é feita nos tanques de cozedura das pranchas de cortiça antes da descarga das águas para a ETAR.

Após a recolha, efectua-se o seu transporte para o Instituto Tecnológico e Nuclear (ITN), situado em Sacavém, no distrito de Loures.

#### **II.2 Preparação das amostras para irradiação**

Em todas as irradiações é utilizado o mesmo volume de solução, 15 mL, de forma a diminuir os erros de dispersão da amostra.

#### **II.3 Equipamento de irradiação**

##### **II.3.1 A unidade de irradiação – Precisa 22**

A unidade de irradiação – modelo Precisa 22 – contém quatro fontes de cobalto-60. A instalação consiste numa cavidade rectangular de aço inoxidável preenchida com ar, cuja parte superior é arqueada, com 65 cm de altura, 50 cm de profundidade e 20 cm de largura. As quatro fontes de cobalto-60 estão posicionadas em quatro tubos de aço inoxidável, localizados nas paredes laterais da câmara em posições frontais e a aproximadamente 30 cm do chão da câmara. O movimento das fontes dentro dos tubos, num comprimento de 50 cm, é controlado por um mecanismo automático. A posição mais dianteira corresponde à dose máxima dentro da câmara [48].

Na Figura II.1., apresentam-se duas imagens da unidade experimental de  $^{60}\text{Co}$ , utilizada no desenvolvimento do trabalho.



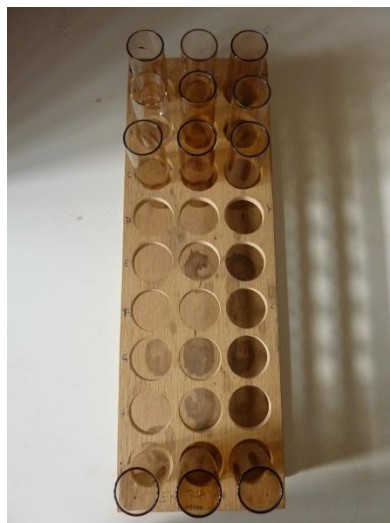
**Figura II.1. Câmara de irradiação da unidade experimental de  $^{60}\text{Co}$ , Precisa 22 [49]**

### **II.3.2 Condições de irradiação**

Para o desenvolvimento deste trabalho são feitas três irradiações em níveis e posições diferentes, uma vez que se pretende realizar o estudo com débitos de dose diferentes.

As irradiações são elaboradas utilizando um suporte metálico com as dimensões 54,2 x 43 x 18,7 cm<sup>3</sup> (altura x comprimento x largura). Este dispositivo está dividido em diferentes níveis de altura, permitindo o estudo da distribuição espacial da taxa de dose na câmara de irradiação.

Cada suporte de madeira, no qual é colocada a amostra a irradiar, tem 27 locais (Figura II.2.).



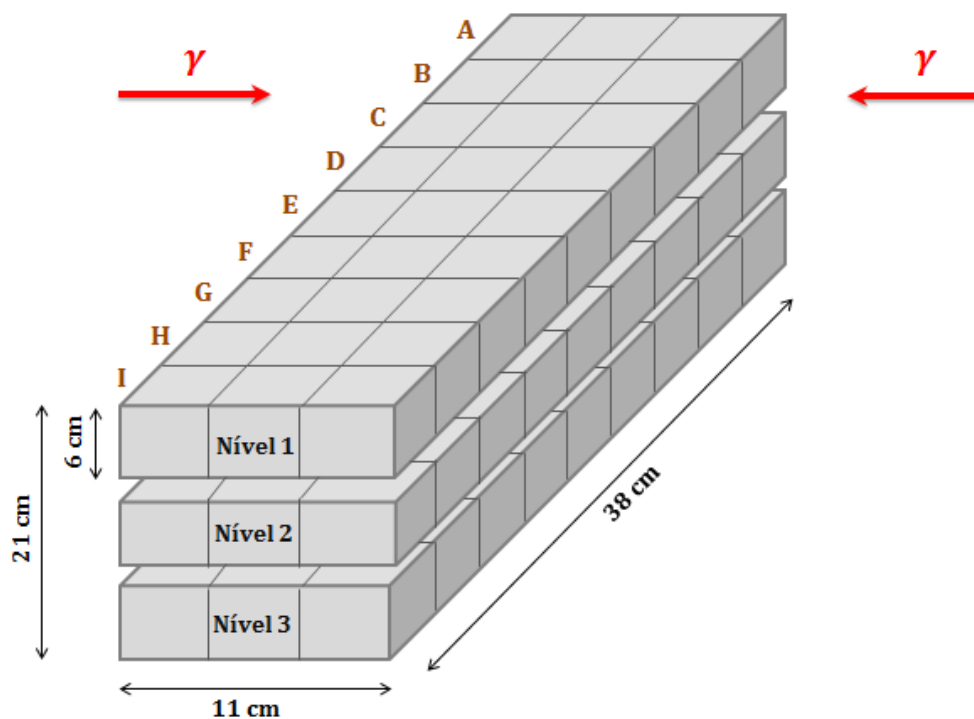
**Figura II.2. Suporte de madeira utilizado para colocar as amostras a irradiar**

As dimensões de cada suporte de madeira estão apresentadas na Tabela II.1. As medições são realizadas nos níveis 1, 2 e 3.

**Tabela II.1. Dimensões dos suportes utilizados nas irradiações**

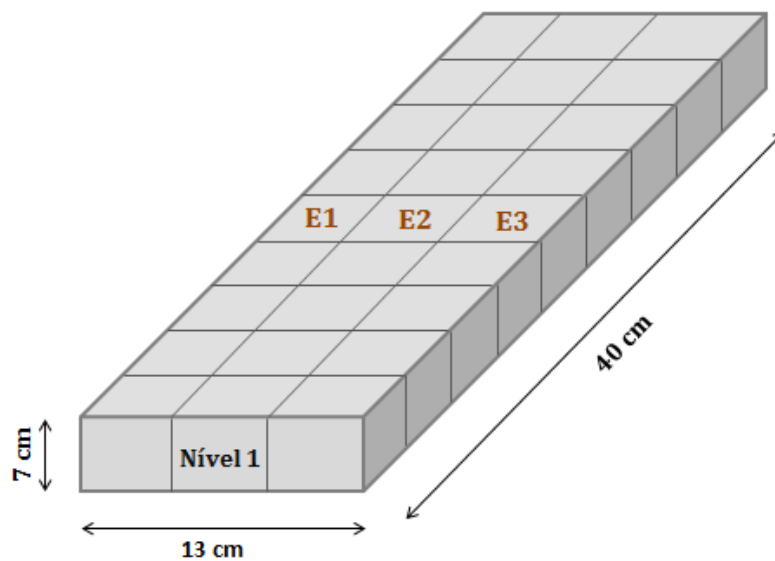
<b>Suporte do nível</b>	<b>Dimensões (altura x comprimento x largura)</b>
1	7 x 40 x 13,3 cm <sup>3</sup>
2	7 x 40 x 13,3 cm <sup>3</sup>
3	7 x 39,9 x 13,2 cm <sup>3</sup>

Na Figura II.3. apresenta-se um esquema geral do suporte de madeira, com os diferentes níveis e diferentes posições.

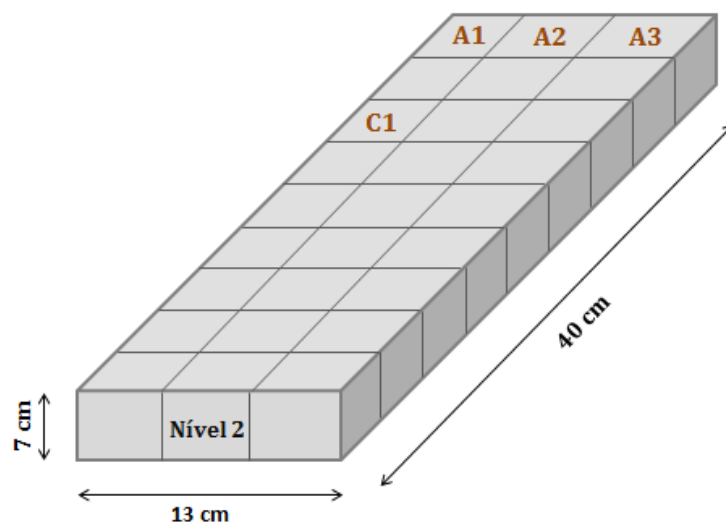


**Figura II.3. Ilustração da geometria de irradiação**

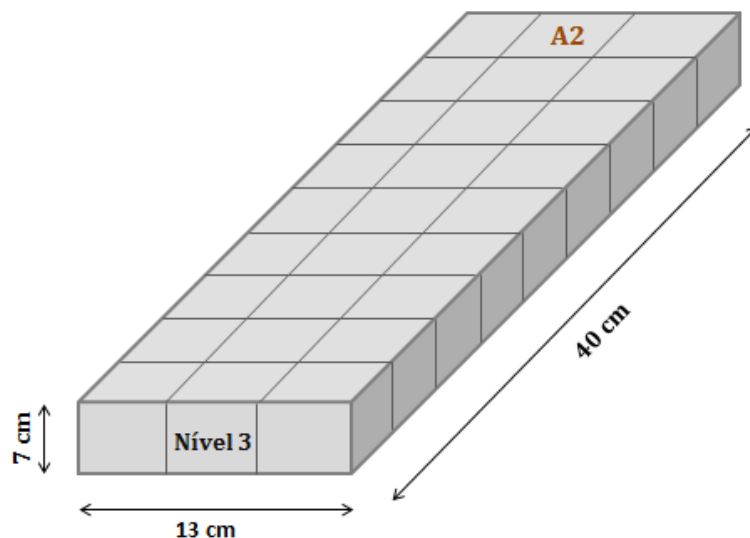
Na Figura II.4., Figura II.5. e Figura II.6. indicam-se, para cada nível usado, as posições em que se realizam as irradiações.



**Figura II.4. Representação dos locais de irradiação do nível 1, utilizados no desenvolvimento do trabalho**



**Figura II.5. Representação dos locais de irradiação do nível 2, utilizados no desenvolvimento do trabalho**



**Figura II.6. Representação dos locais de irradiação do nível 3, utilizados no desenvolvimento do trabalho**

São realizados ensaios de dosimetria de Fricke no nível 2, posições A, B, C e I. Posteriormente, são irradiadas amostras de água de cozedura nos níveis 1, 2 e 3.

### **II.3.3 Dosimetria de referência – Solução de Fricke**

Tal como referido no capítulo I (subcapítulo I.3), a solução de Fricke é um dosímetro químico de referência, que permite determinar a dose absorvida em função da concentração do ião férrico formado por oxidação do ião ferroso. O procedimento experimental para a preparação desta solução encontra-se descrito no anexo A.

É estudado apenas um dos níveis do equipamento Precisa 22 (nível 2 e posições A, B, C e I), uma vez que os outros níveis que são utilizados já foram estudados pelo “Grupo de Tecnologias de Radiação: Processos e Produtos”. O objectivo é estudar os débitos de dose correspondentes a essas posições, para posterior irradiação das amostras de água de cozedura da cortiça.

Para a posição A e B, os tempos de irradiação foram de 1, 2 e 3 minutos. Para a posição C usam-se tempos de irradiação de 2, 4 e 6 minutos e para a posição I os tempos de irradiação são de 10, 15 e 20 minutos. A estimativa dos tempos de irradiação é realizada com base no pressuposto de que o dosímetro de Fricke tem uma resposta linear com a radiação no intervalo 40-400 Gy. Para cada tempo e cada posição são realizadas nove réplicas.

Os débitos de dose determinados são, posteriormente, utilizados para estimar os tempos de irradiação das amostras de água de cozedura de cortiça.

São irradiados volumes de 20 mL em frascos de pyrex. As leituras das absorvâncias das soluções irradiadas realizam-se usando um espectrofotómetro *Shimadzu UV 1800*, no comprimento de onda de 305 nm. Para garantir a reprodutibilidade do processo, são feitas três réplicas para cada uma das posições.

A dose absorvida é calculada através da Equação I.18 (página 23), depois da irradiação dos tubos.

As medições de temperatura são efectuadas com um multímetro *Mult Digital Fluke-179* (Fluke Corporation). A temperatura é medida logo após a irradiação e durante as medições das absorvâncias, de modo a ser aplicado um factor de correcção de temperatura na determinação da dose absorvida.

## II.4 Irradiação

### II.4.1 Doses e Tempos de irradiação

De acordo com a dosimetria química de referência, são calculados os tempos de irradiação para as amostras de águas de cozedura de cortiça (Tabela II.2.). Com excepção do nível 2, em que se utilizam os débitos de dose obtidos na dosimetria de referência realizada neste trabalho, os débitos de dose usados nas irradiações do nível 3 e 1 são os obtidos em dosimetrias efectuadas anteriormente (Julho e Agosto de 2010, respectivamente).

Tendo em conta o decaimento da fonte, os valores de débito de dose são ajustados para os dias das irradiações ( $DD_{actual}$ ).

A irradiação no nível 3 foi realizada em Junho de 2011 e as restantes em Julho de 2011.

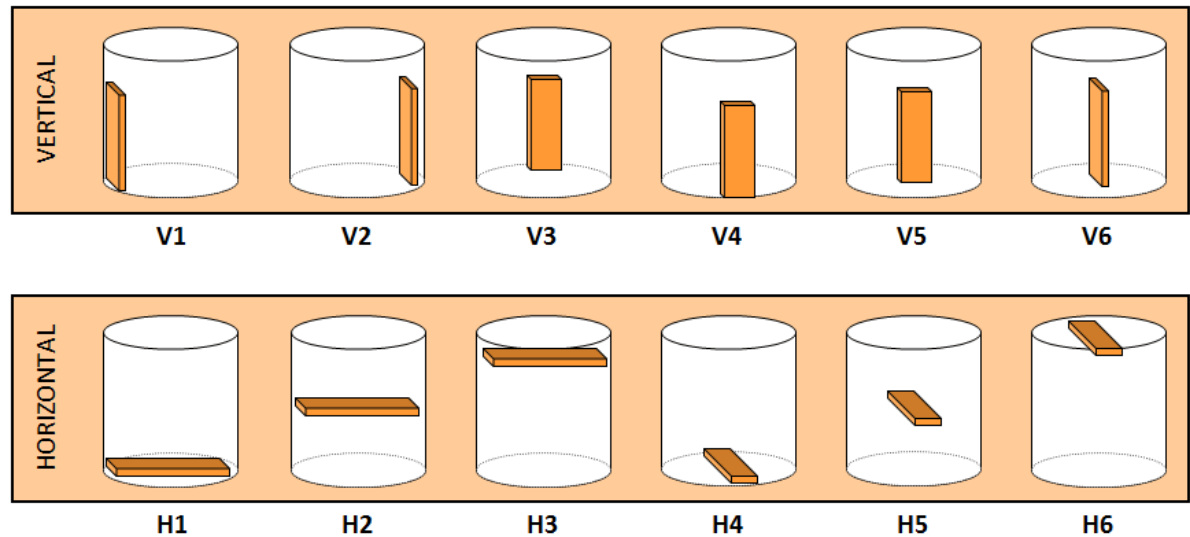
**Tabela II.2. Tempo de irradiação e doses previstas para as águas de cozedura de cortiça, calculados através dos débitos de dose ( $DD_{ref}$ ) obtidos na dosimetria química**

Nível	Posição	$DD_{ref}$ (kGy.h <sup>-1</sup> )	$DD_{actual}$ (kGy.h <sup>-1</sup> )	Dose Prevista (kGy)	Tempo de irradiação (hh:mm:ss)
1	E1	0,458	0,404	2	04:56:48
1	E2	0,518	0,457	10	21:53:34
1	E3	0,415	0,366	20	54:40:04
1	E1	0,458	0,404	50	123:39:53
2	A1	2,570	2,426	2	0:49:28
2	A2	2,770	2,615	10	03:49:28
2	A3	2,630	2,483	20	08:03:21
2	C1	2,530	2,383	50	20:58:51
3	A2	1,428	1,274	2	01:34:12
3	A2	1,428	1,274	10	07:50:59
3	A2	1,428	1,274	20	15:42:58
3	A2	1,428	1,274	40	31:27:18

Como se pode ver pela Tabela II.2., alguns tempos de irradiação são bastante longos, o que torna as irradiações demoradas.

**II.4.2 Dosimetria de rotina – Polimetilmetacrilato**

Os dosímetros podem ser colocados em diferentes posições, consoante as posições do suporte de madeira onde são colocados os tubos para irradiar, como se pode observar pela Figura II.7.



**Figura II.7. Orientações dos dosímetros de rotina de PMMA**

Neste trabalho, são utilizadas as posições V1 e V2. Depois da irradiação, são medidas as absorvâncias dos dosímetros e também a sua espessura. O procedimento experimental usado está descrito no anexo F.

Para calcular a dose, dada pela Equação I.19 (página 25), usam-se os seguintes coeficientes (Tabela II.3.). São usados os dois dosímetros de rotina, sendo que o Amber Perspex é utilizado para as irradiações entre 2 e 20 kGy e o dosímetro Red Perspex 4034 para a dose estimada de 50 kGy.

Tabela II.3. Coeficientes de calibração usados no cálculo da dose por dosimetria de rotina				
Coeficientes	Red Perspex 4034	Amber Perspex 3042 (Lote V)		Amber Perspex 3042 (Lote P)
		640 nm	603 nm	651 nm
A	1,49139	0,221	0,364	1,1589
B <sub>1</sub>	-0,29695	2,07	2,85	1,8824
B <sub>2</sub>	9,50188	0,132	0,771	0,9006
B <sub>3</sub>	-3,58	-0,0108	-0,172	-0,1922
B <sub>4</sub>	6,12x10 <sup>-1</sup>	0,00241	0,0269	0,031



## II.5 Pós-irradiação – Metodologias

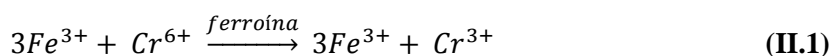
### II.5.1 Caracterização físico-química da água de cozedura de cortiça

As águas de cozedura de cortiça são analisadas por um conjunto de parâmetros físico-químicos, designadamente, Carência Química de Oxigénio (CQO), Carbono Orgânico Total (COT) e pH.

#### II.5.1.1 Carência Química de Oxigénio

A Carência Química de Oxigénio (CQO) é um parâmetro que mede a qualidade da água e que traduz a quantidade de oxigénio necessária para oxidar quimicamente, em determinadas condições, a matéria orgânica e inorgânica presente numa amostra líquida [50]. Para isso, o oxigénio equivalente à matéria orgânica é medido através de um reagente oxidante [51]. Esta medida corresponde apenas a uma estimativa da matéria orgânica e/ou inorgânica oxidável existente numa água em virtude de poder haver alguns compostos orgânicos que não sejam oxidados nas condições técnicas da análise.

A Carência Química de Oxigénio é determinada pelo método titulométrico de refluxo fechado [50]. Este método baseia-se no facto de a maioria dos compostos orgânicos serem oxidados por uma solução ácida de dicromato de potássio (ião crómio), em ebulição. São adicionados 2,5 mL de amostra a um tubo de reacção onde se tinha colocado 3,5 mL de uma solução  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-Ag}_2\text{SO}_4$  e 1,5 mL da solução de digestão (dicromato de potássio). Depois de homogeneizadas as soluções, tapam-se os tubos e colocam-se no termoreactor pré-aquecido a  $148^\circ\text{C}$ , durante 3 horas. Após a digestão, o dicromato de potássio reduzido é quantificado por titulação com sulfato de amónio ferroso (FAS) e relacionado com o valor de CQO da amostra. A oxidação dos compostos orgânicos resulta na redução de  $\text{Cr}^{6+}$  para  $\text{Cr}^{3+}$ .



Este método é realizado recorrendo ao aparelho *Thermoreactor TR300*. As amostras de água usadas, irradiadas e não irradiadas, são inicialmente diluídas 10 vezes com água ultrapura e feitas três réplicas de cada uma para garantir a fiabilidade/reprodutibilidade da análise. O protocolo seguido está descrito no anexo B.

O cálculo da CQO, obtida em mg de  $\text{O}_2$  por litro de amostra, é efectuado com base na seguinte equação:

$$\text{CQO} = \frac{(A-B) \times M \times 8000}{\text{volume}_{\text{amostra}}} \quad (\text{II.2})$$

Em que

A → Volume de FAS usado na amostra de branco (mL)

B → Volume de FAS usado na amostra (mL)

M → Massa molecular de FAS

8000 → Miliequivalentes em peso de  $O_2 \cdot 1000$  (mL.L<sup>-1</sup>)

#### ***II.5.1.2 Carbono Orgânico Total***

As medições de carbono orgânico total (COT) podem ser realizadas por dois métodos diferentes: directo e indirecto. Todas as formas de carbono são convertidas em  $CO_2$ , que pode ser medido quantitativamente por meio de um detector [52].

No método directo, o carbono orgânico presente na amostra é medido de duas formas. Na primeira, o carbono inorgânico (CI) é removido através de um tratamento ácido, antes da medição do carbono orgânico. A segunda maneira não remove o carbono inorgânico, mas usa uma oxidação química para determinar o conteúdo em carbono orgânico [52].

No método indirecto, o carbono orgânico total é obtido pela subtracção do conteúdo de carbono inorgânico ao conteúdo de carbono total ( $COT = CT - CI$ ), obtido em g de dióxido de carbono por litro de amostra. O carbono total é medido pela oxidação de todo o carbono presente, enquanto o carbono inorgânico é medido pela acidificação da amostra ou pela decomposição após a eliminação de carbono orgânico [52].

O tratamento ácido é feito com HCl, assumindo-se que todo o carbono inorgânico está na forma de carbonatos e que estes reagem rápida e completamente com o meio ácido produzindo  $CO_2$ . O gás produzido é arrastado com um gás inerte, sendo quantificado depois de captado num detector de condutividade térmica [53].

A quantificação do carbono orgânico total neste trabalho é elaborada pelo método indirecto, recorrendo ao aparelho *IL 550 TOC-TN*.

#### ***II.5.1.3 Medição do pH***

Para leitura do pH, utiliza-se um potenciómetro equipado com um eléctrodo de pH ligado a um medidor digital da marca *Radiometer*.

## **II.5.2 Determinação do conteúdo em compostos fenólicos**

### ***II.5.2.1 Método de Folin-Ciocalteu***

O conteúdo em fenólicos totais é determinado utilizando o método de Folin-Ciocalteu.

Este método baseia-se na redução química em meio alcalino do fosfomolibdato-fosfotungstato a molibdénio, pelos polifenóis [54]. Os produtos obtidos apresentam uma cor azul que exibe um máximo de absorção a 765 nm [54]. A intensidade da cor azul é proporcional à concentração de compostos fenólicos presentes na amostra.

A determinação dos compostos fenólicos baseia-se no método descrito na literatura com algumas modificações (Singleton et al., 1999). As amostras de água são inicialmente diluídas 5 vezes com água ultrapura e feitas três réplicas de cada uma. A 0,5 mL de amostra adicionam-se cerca de 35 mL de água e 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (FC) que consiste numa mistura de óxidos de molibdénio e o tungsténio, agitando bem e incubando 5 minutos à temperatura ambiente. Depois disso, adicionam-se 7,5 mL da solução de carbonato de sódio e perfaz-se o volume do balão volumétrico com água. Agita-se e incuba-se durante 2 horas, medindo-se depois as absorvâncias, a 765 nm num espectrofotómetro *Shimadzu UV 1800*.

O procedimento experimental está descrito no anexo C.

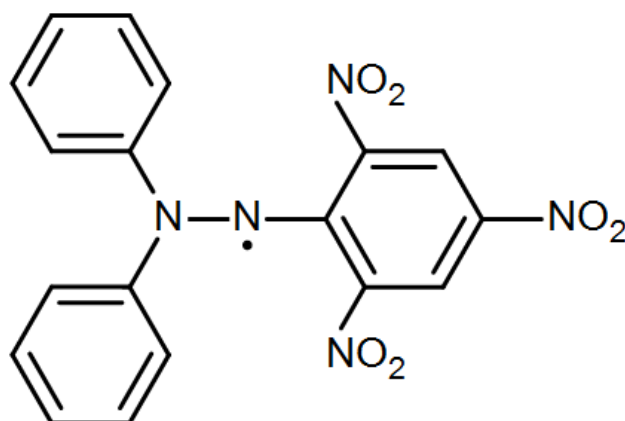
## **II.5.3 Determinação da actividade antioxidante**

O estudo da actividade antioxidante é feito com base em dois métodos: o método de sequestro do radical DPPH<sup>•</sup> e o método do poder redutor férrico, conhecido como FRAP.

### ***II.5.3.1 Estudo do sequestro do radical DPPH<sup>•</sup>***

A captura do radical DPPH<sup>•</sup> é considerada um método rápido e simples para avaliar a actividade de sequestro de radicais dos antioxidantes, desde que o radical seja estável e não precise de ser gerado como é comum em outros métodos de captura de radicais [54].

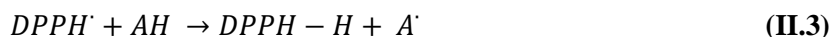
No caso do DPPH (2,2-Difenil-1-picril-hidrazila), observa-se uma certa estabilidade que pode ser explicada pelo facto de a sua estrutura possuir ligações duplas alternadas nos anéis benzénicos, sofrendo efeito de ressonância. Este efeito é muito eficaz no que toca à estabilização da carga electrónica, uma vez que a dispersa por toda a molécula. Assim, a espécie radicalar DPPH torna-se mais estável e menos reactiva. Além disso, os grupos NO<sub>2</sub> situados no anel picril-hidrazilo, por retirarem electrões, descentalizam o electrão desemparelhado, ajudando na sua estabilização. A molécula de DPPH<sup>•</sup> está representada na Figura II.8.



**Figura II.8. Estrutura molecular do radical livre DPPH' [55]**

O DPPH pode agir de duas maneiras: como capturador de outros radicais livres ou de substâncias neutras que tenham a capacidade de o estabilizar, como as substâncias com propriedades antioxidantes.

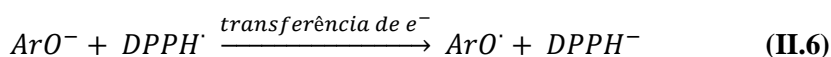
A reacção do DPPH com os antioxidantes ocorre através de um mecanismo paralelo. A primeira etapa é a doação de um átomo de hidrogénio ao radical por um antioxidante



Na segunda etapa, o radical antioxidante ( $A'$ ) formado na reacção anterior ataca uma nova molécula de DPPH',



A primeira etapa pode ocorrer através de dois mecanismos, transferência de hidrogénio ou transferência de electrão. Uma vez que a solução de DPPH é uma solução alcoólica (o solvente é metanol), o mecanismo baseia-se, preferencialmente [45], na transferência de electrão de um antioxidante ionizado para o DPPH, resumindo-se de seguida.



As soluções de DPPH têm uma intensa cor violeta e apresentam uma forte banda de absorção a 515 nm. A redução do radical DPPH' é facilmente perceptível, pois existe uma mudança na cor da solução, de violeta para amarelo, com uma consequente descida de absorvância [56].

A quantidade de DPPH<sup>•</sup> removida do meio, acompanhada pela diminuição na absorvância da solução do radical, é proporcional à actividade sequestradora da amostra. Assim, é possível assumir que o consumo de DPPH<sup>•</sup> é equivalente à capacidade antioxidante das substâncias presentes na amostra [57].

Neste método, a eficiência antioxidante é medida à temperatura ambiente e, assim, elimina-se o risco de degradação térmica das moléculas testadas. No entanto, o mecanismo reaccional entre o antioxidante e o DPPH<sup>•</sup> depende da estrutura do antioxidante [58].

Esta determinação baseia-se no método descrito na literatura, por Brand-Williams et al. (1995) [55]. As absorvâncias das amostras de água de cozedura da cortiça, irradiadas e não irradiadas, são lidas a 515 nm com recurso ao espectrofotómetro *Shimadzu UV 1800*, usando metanol como controlo. Para isso, juntam-se 100 µL de amostra a 3,9 mL da solução de DPPH e homogeneiza-se em *vórtex* para se realizarem as leituras de absorvância. Estas leituras são feitas de minuto a minuto, durante 120 minutos, até se atingir um patamar. O procedimento experimental usado está descrito detalhadamente no anexo D.

A actividade antioxidante das amostras é expressa em termos de percentagem de DPPH remanescente, definida como

$$DPPH \text{ remanescente (\%)} = \frac{Abs_{amostra}}{Abs_{controlo}} \times 100 \quad (II.8)$$

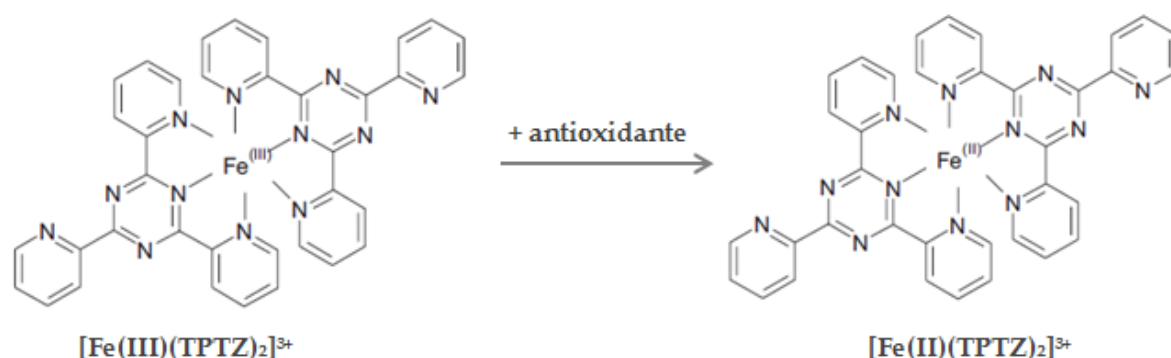
Em que Abs<sub>controlo</sub> é a absorvância da solução de controlo e Abs<sub>amostra</sub> é a absorvância da amostra., ambas medidas no patamar.

A actividade antiradicalar é definida como a quantidade de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH<sup>•</sup> em 50% (EC<sub>50</sub>) [55]. Os valores de EC<sub>50</sub> são calculados por regressão exponencial. Baixos valores de EC<sub>50</sub> indicam forte actividade antioxidante [56].

São realizados ensaios com várias concentrações das amostras irradiadas e não irradiadas e, para cada uma das concentrações, são feitas três réplicas.

### **II.5.3.2 Poder Redutor Férrio (FRAP)**

A actividade antioxidante também pode ser caracterizada pelo método do poder redutor férrio. Este método mede o potencial redutor de um antioxidante que, a pH baixo, reage com um complexo férrio-tripiridiltiazina (Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) e produz a sua forma ferrosa (Fe<sup>2+</sup>-TPTZ) (Figura II.9.) [59].



**Figura II.9. Redução do complexo TPTZ com  $\text{Fe}^{3+}$  [36]**

Esta forma ferrosa apresenta uma cor azul intensa com um máximo de absorção a 593 nm [59].

Geralmente, as propriedades redutoras são relacionadas com a presença de compostos que exercem a sua acção quebrando a cadeia de radical livre através da doação de um átomo de hidrogénio [60].

O método FRAP é barato, os reagentes são de preparação simples, os resultados têm uma alta reprodutibilidade e o seu procedimento é simples e rápido [59].

Esta determinação baseia-se no método descrito na literatura, por Benzie e Strain (1996). As amostras são inicialmente diluídas 10 vezes com água ultrapura e feitas três réplicas de cada uma. O reagente de FRAP é preparado diariamente através da mistura de uma solução tampão acetato (300 mM, pH 3,6), uma solução de TPTZ (10 mM) e uma solução de cloreto férrico (20 mM) na proporção de 10:1:1 a 37°C. 100 µL de amostra de água são adicionadas a 3 mL de reagente de FRAP e incubadas a 37°C durante 15 minutos, para posterior leitura de absorvância a 593 nm. Para a realização destas leituras é usado um espectrofotómetro *Shimadzu UV 1800* (anexo E).

A actividade antioxidante é determinada em termos de concentração em equivalentes de sulfato ferroso, através da curva de calibração (Equação III.7) apresentada no Capítulo III (página 61).

#### II.5.4 Análise Estatística

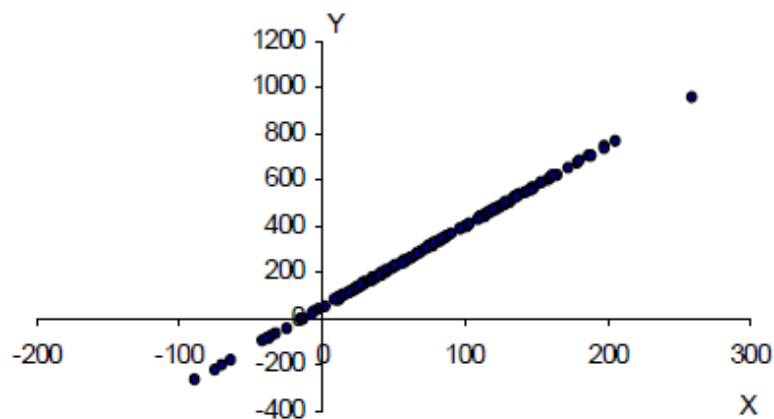
Todos os ensaios, à excepção do TOC, são realizados em triplicado. O tratamento estatístico dos resultados é realizado através da análise da variância (ANOVA) e do teste não paramétrico *Kruskal-Wallis* para comparações entre grupos utilizando o *software* Origin Pro (Origin Lab. Corporation, Massachusetts, USA).

### II.5.5 Medidas de Correlação

Em estudos que envolvem duas ou mais variáveis, é comum o interesse em conhecer o relacionamento entre elas, além das estatísticas descritivas normalmente calculadas. A medida que mostra o grau de relacionamento entre duas variáveis é conhecida como coeficiente de correlação, também conhecido como medida de associação, de interdependência ou de relação entre as variáveis [61].

Podem existir diferentes formas de correlação entre as variáveis. O caso mais simples e mais conhecido é a correlação simples, envolvendo duas variáveis, X e Y. A relação entre duas variáveis é linear quando o valor de uma pode ser obtido aproximadamente por meio da equação da recta. Assim, é possível ajustar uma recta da forma  $y = a + bx$  aos dados. Neste caso, a correlação é linear simples. Porém, quando não é possível o ajuste da equação anterior, não significa que não exista correlação entre elas, podendo existir correlação não-linear entre as mesmas.

Uma forma simples de verificar o tipo de correlação existente entre duas variáveis é através do gráfico denominado diagrama de dispersão. Trata-se de um gráfico onde são representados os pares  $(X_i, Y_i)$ , com  $i = 1, 2, \dots, n$ , onde  $n$  é o número total de observações. As Figura II.10 a II.13. representam possíveis diagramas de dispersão entre as variáveis X e Y [61].



**Figura II.10. Correlação linear positiva perfeita entre as variáveis X e Y ( $r=1$ )**

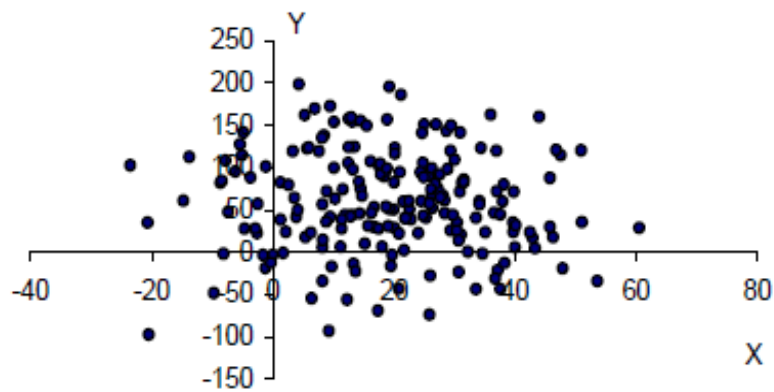


Figura II.11. Correlação linear nula entre as variáveis X e Y ( $r=0$ )

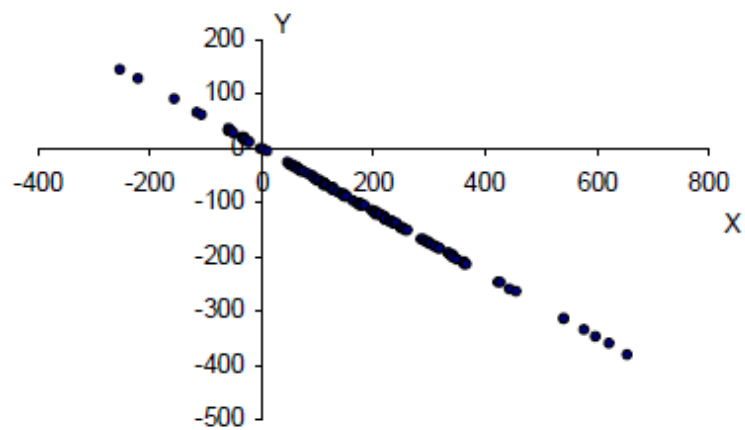


Figura II.12. Correlação linear negativa perfeita entre as variáveis X e Y ( $r=-1$ )

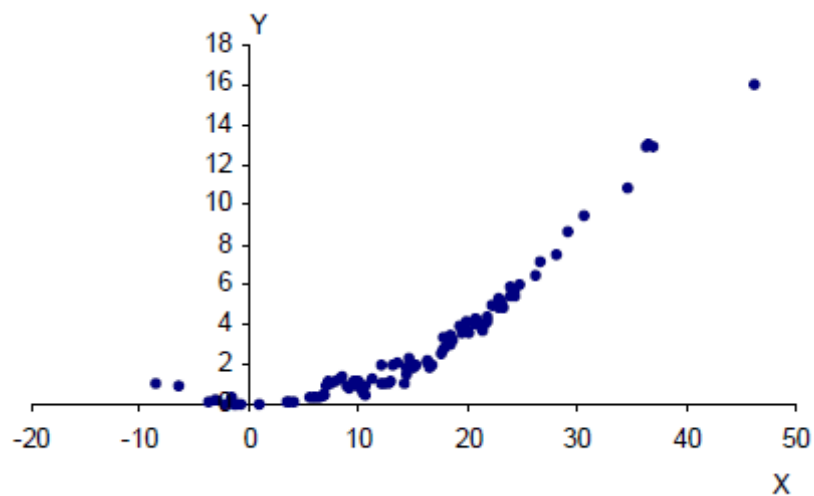


Figura II.13. Correlação não-linear entre as variáveis X e Y



### II.5.5.1 Correlação de Pearson

Um dos métodos conhecidos para medir a correlação entre duas variáveis é o Coeficiente de Correlação Linear de Pearson, simbolizado por  $r$ , e também conhecido como Coeficiente de Correlação do Momento Produto [61]. Este foi o primeiro método de correlação, estudado por Francis Galton e Karl Pearson, em 1897.

O coeficiente de correlação linear de Pearson ( $r$ ) varia entre -1 e 1. O sinal indica direcção positiva ou negativa do relacionamento e o valor sugere a força da relação entre as variáveis [62]. Uma correlação perfeita (-1 ou 1) indica que o comportamento de uma variável pode ser determinado exactamente ao saber-se o comportamento da outra. Quanto mais perto de 1, independentemente do sinal, maior é o grau de dependência estatística linear entre as variáveis. Por outro lado, uma correlação de valor zero indica que não há relação linear entre as variáveis [62]. Todavia, como valores extremos (0 ou 1) não são usualmente encontrados, é importante perceber como se podem interpretar a magnitude dos coeficientes.

A classificação (Tabela II.4.) do coeficiente de correlação linear foi efectuada segundo Santos C. [63].

Tabela II.4. Classificação da linearidade	
Coeficiente de correlação	Correlação
$ r  = 1$	Perfeita
$0,8 \leq  r  < 1$	Forte
$0,5 \leq  r  < 0,8$	Moderada
$0,1 \leq  r  < 0,5$	Fraca

A expressão para calcular este coeficiente é [62]

$$r = \frac{1}{n-1} \sum \left( \frac{x_i - \bar{X}}{S_x} \right) \left( \frac{y_i - \bar{Y}}{S_y} \right) \quad (\text{II.9})$$

Em que  $x_i$  e  $y_i$  representam os valores das observações que se querem comparar,  $\bar{X}$  e  $\bar{Y}$  representam as médias e  $S_x$  e  $S_y$  os respectivos desvios padrão.

O coeficiente de correlação linear de Pearson pode também ser calculado através de uma representação gráfica das duas variáveis a comparar. Através do diagrama de dispersão, o valor do coeficiente de Pearson é determinado pelo coeficiente de correlação ( $R^2$ ) da regressão linear aplicada.



## CAPÍTULO III

### III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são avaliados e discutidos os resultados obtidos através da metodologia descrita no Capítulo II.

#### III.1 Dosimetria Fricke

Como foi referido anteriormente, as irradiações da solução de Fricke foram realizadas na unidade de irradiação Precisa 22, no nível 2, para se determinarem os débitos de dose (kGy/h) para cada posição.

Com base na Equação I.18 (página 23) foram calculadas as doses absorvidas médias para cada posição. Para cada tempo e cada posição foram realizadas nove réplicas.

Na Figura III.1 a Figura III.9 estão representadas graficamente, para cada posição, a dose estimada em função do tempo de irradiação. As linhas de tendência da regressão linear estão representadas a tracejado e os débitos de dose foram obtidos pelo declive dos gráficos.

O erro padrão do declive foi determinado com base na seguinte equação

$$\sigma_{declive} = \frac{1}{declive^2} \times \text{Erro padrão da recta} \quad (\text{III.1})$$

### III.1.1 Posição A, B, C e I

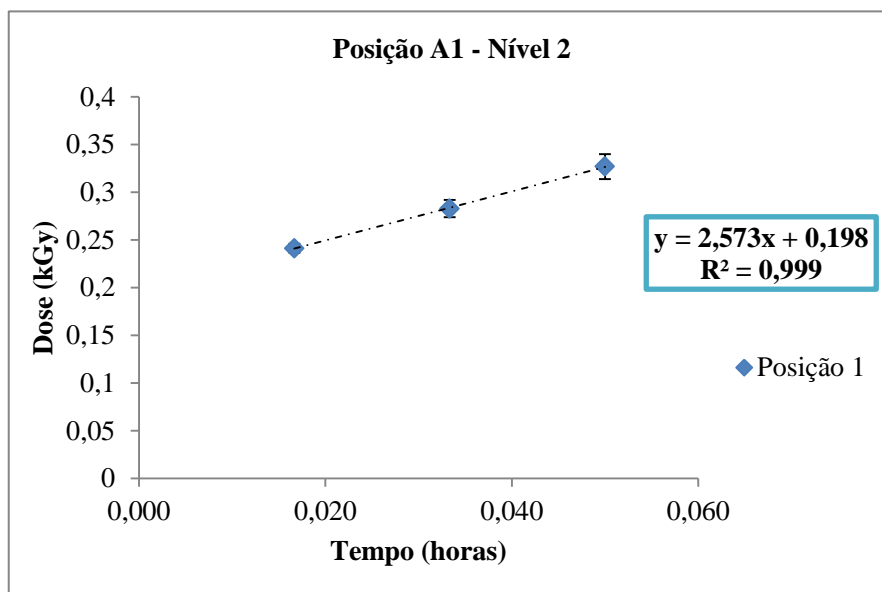


Figura III.1. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação A1 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )

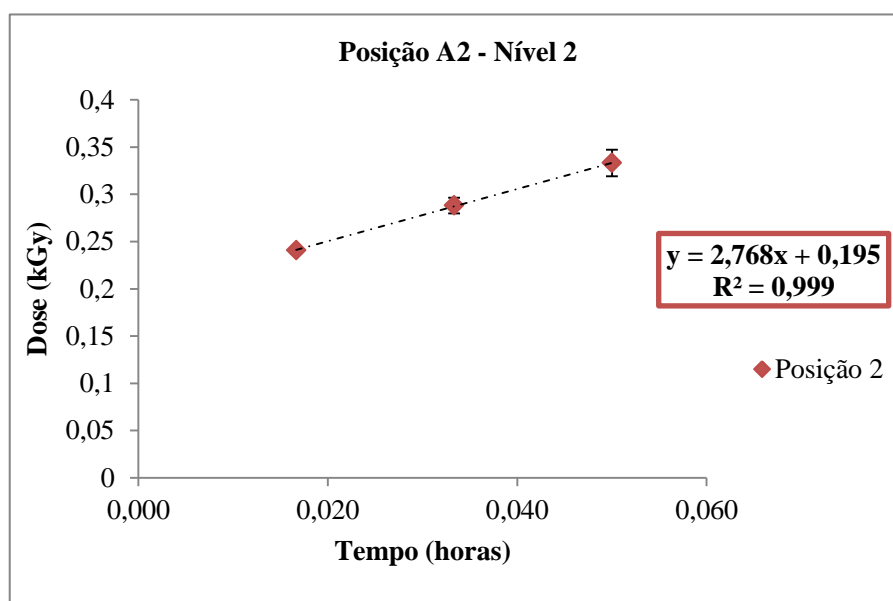
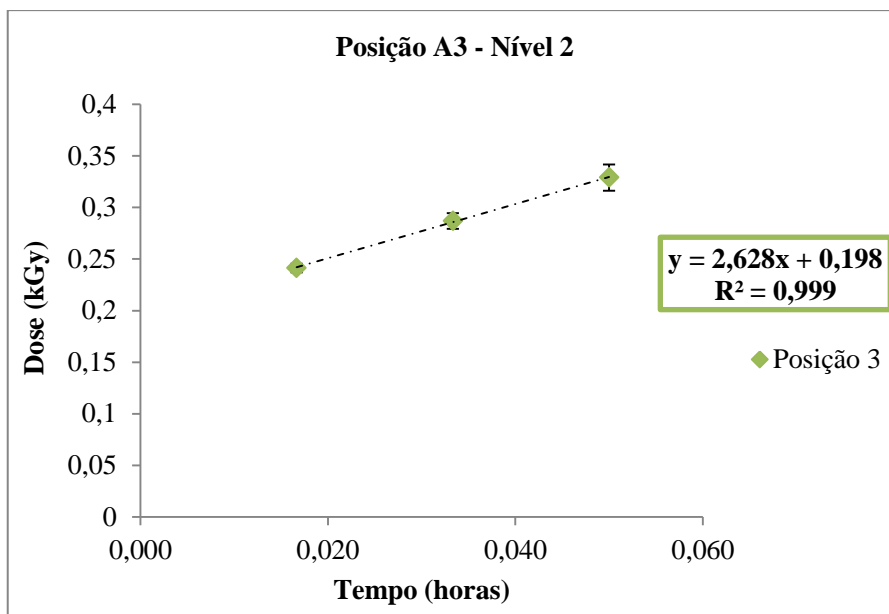
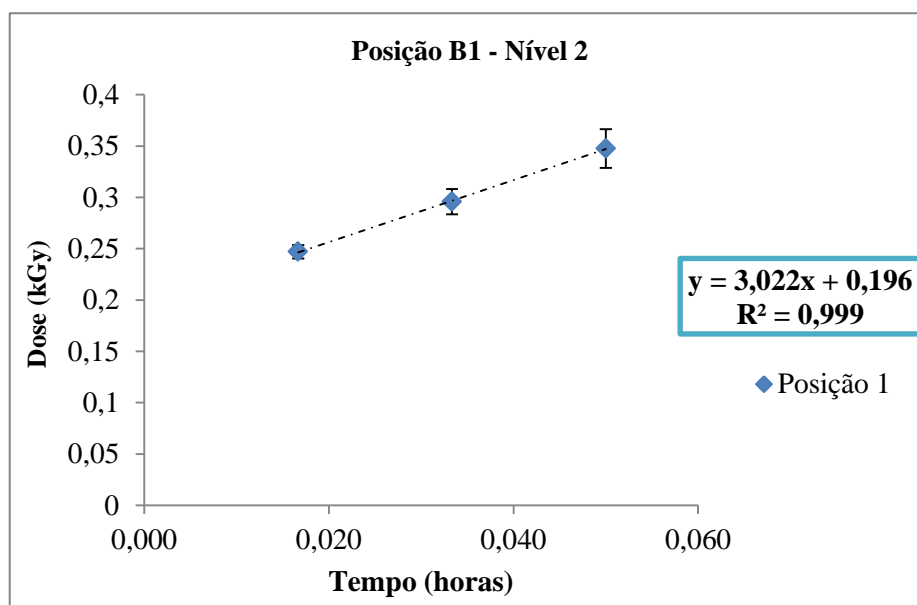


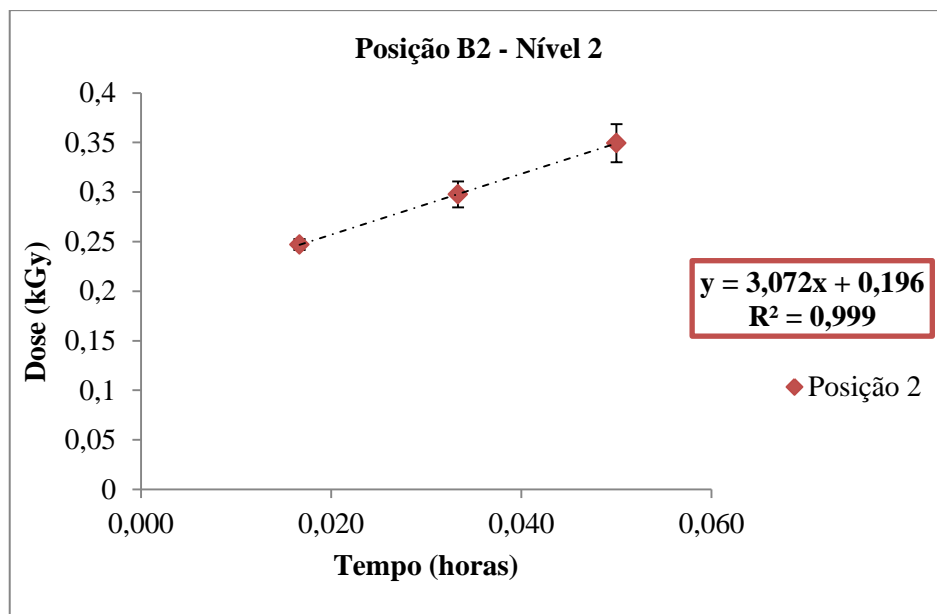
Figura III.2. Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação A2 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )



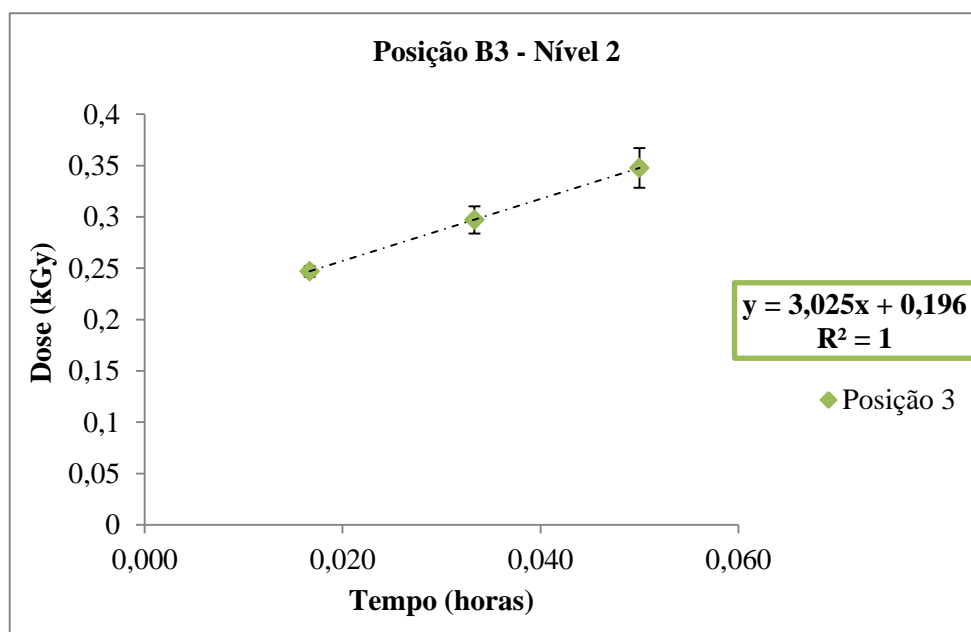
**Figura III.3.** Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação A3 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )



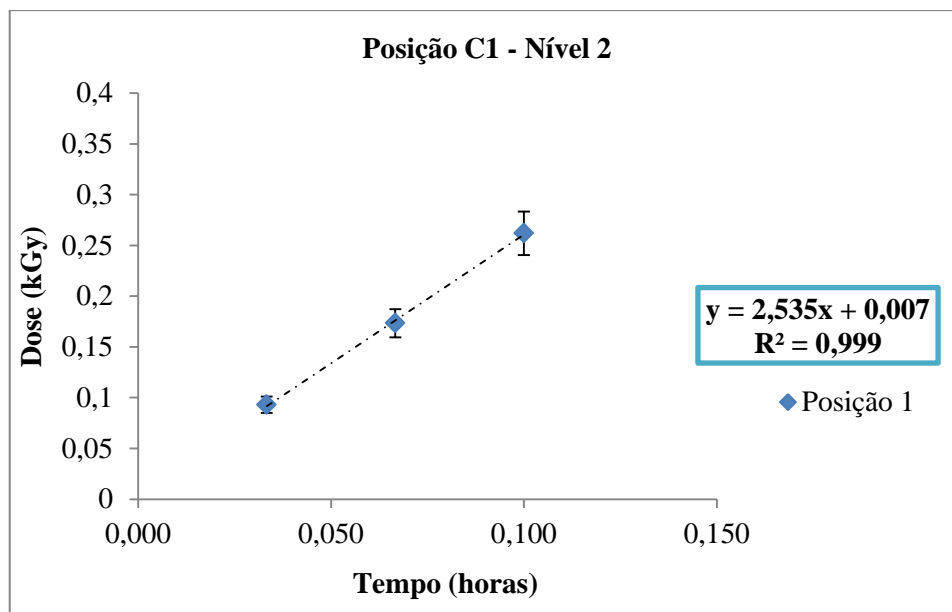
**Figura III.4.** Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação B1 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )



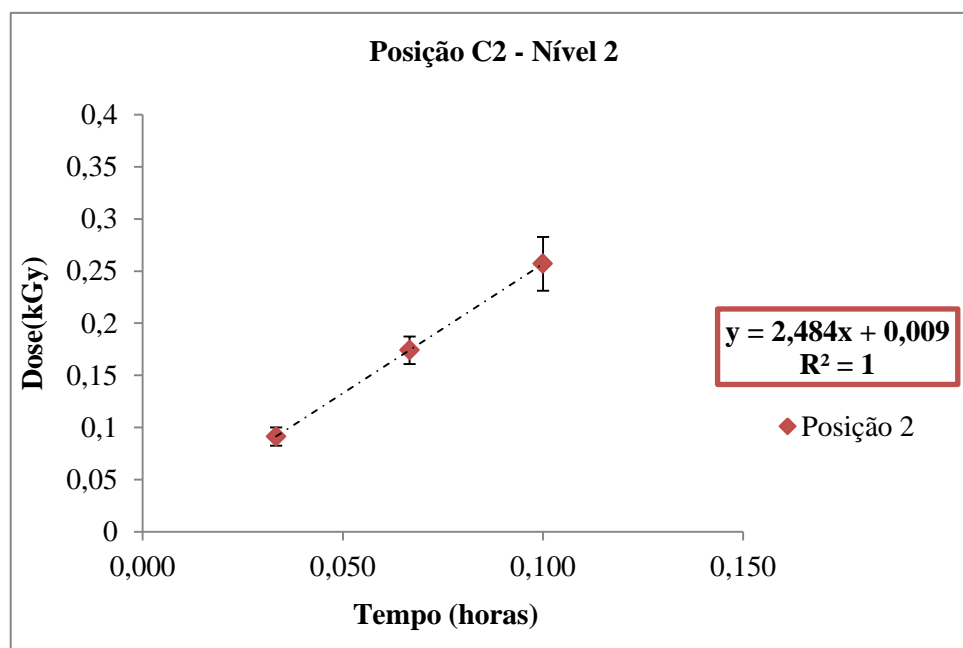
**Figura III.5.** Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação B2 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )



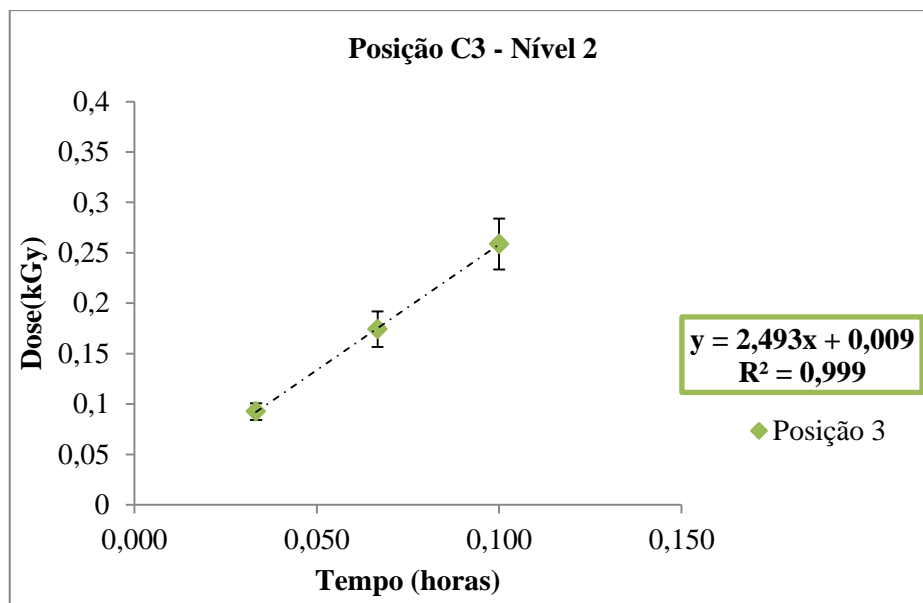
**Figura III.6.** Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação B3 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )



**Figura III.7.** Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação C1 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )



**Figura III.8.** Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação C2 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )



**Figura III.9.** Dose média absorvida (kGy) estimada para a posição de irradiação C3 em função do tempo de irradiação (h) (n=9 e  $\alpha=0,05$ )

Na Tabela III.1. estão resumidos os resultados relativos aos débitos de dose (kGy/h) e respectivos erros padrão, determinados a partir da regressão linear, para cada uma das posições.

<b>Posição</b>	<b>A (kGy.h<sup>-1</sup>)</b>	<b>B (kGy.h<sup>-1</sup>)</b>	<b>C (kGy.h<sup>-1</sup>)</b>
<b>1</b>	2,57297 ± 0,00015	3,02148 ± 0,00014	2,53450 ± 0,00051
<b>2</b>	2,76796 ± 0,00013	3,07189 ± 0,00006	2,48437 ± 0,00001
<b>3</b>	2,62821 ± 0,00020	3,02482 ± 0,00001	2,49273 ± 0,00046

Como se pode observar pela Tabela III.1., verifica-se que os débitos de dose das posições centrais (A2 e B2) são superiores aos débitos de dose das posições laterais, o que poderá ser justificado pela contribuição ponderada das fontes de cobalto-60, havendo uma maior deposição da energia nas partes centrais. Na posição C, esta situação não se verifica, o que poderá dever-se a esta posição estar mais afastada das fontes do que as posições anteriores.

Para a posição I não foi possível determinar os débitos de dose, uma vez que os valores de dose absorvida se encontravam fora do intervalo para o dosímetro de Fricke (40 – 400 Gy) para os tempos de 10 e 15 minutos.

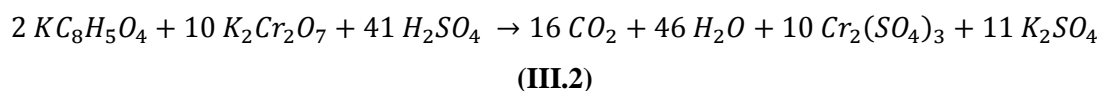


## III.2 Calibração

### III.2.1 Carência Química de Oxigénio

A determinação experimental da CQO pode ser afectada por erros experimentais sistemáticos que ocorrem tanto com as amostras como com as soluções padrão. Para minimizar este tipo de erros, efectuou-se uma série de determinações da CQO com soluções padrão de hidrogenofthalato de potássio (KHP), a várias concentrações com CQO conhecidos (50, 100, 200, 350, 500, 650, 750, 850 e 1000 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>). As diluições foram preparadas a partir da solução-mãe com CQO de 1000 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>. O protocolo experimental seguido está descrito no anexo B.

A reacção que ocorre neste teste dá-se segundo a estequiometria



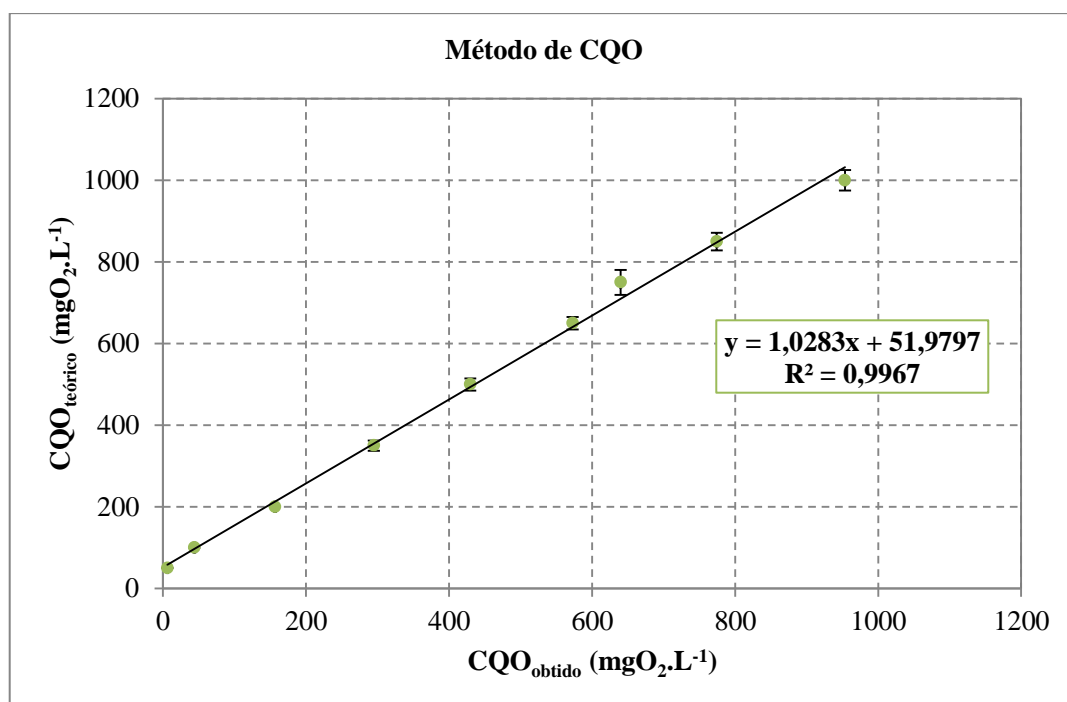
Na Tabela III.2. estão representados os valores obtidos para este ensaio (em que n=3).

**Tabela III.2. Resultados CQO obtidos das várias soluções de KHP (n=3; α=0,05)**

<b>CQO<sub>teórico</sub> (mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>CQO<sub>obtido médio</sub> (mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Intervalo de Confiança (α = 0,05)</b>
50	6,27	0	-
100	43,92	0	-
200	156,86	0	-
350	294,90	10,87	12,30
500	429,80	13,31	15,06
650	572,80	13,58	15,36
750	640,00	27,15	30,73
850	774,40	19,20	21,73
1000	953,60	22,17	25,09

Pela Tabela III.2., observa-se que os valores de CQO obtidos são mais baixos que os valores de CQO teóricos. Este resultado pode dever-se à ocorrência de erros na pesagem de hidrogenofthalato de potássio (KHP) para preparação da solução-mãe, que pode ter levado a que as diluições posteriores não estivessem correctas em relação às concentrações pretendidas.

Na Figura III.10. estão representados, graficamente, os valores obtidos na Tabela III.2.



**Figura III.10. Recta de Calibração para o método de CQO (n=3)**

Pela análise da Figura III.10., observa-se que existe linearidade nos resultados obtidos. Deste modo, a equação que descreve esta relação linear foi utilizada para corrigir o valor experimental determinado para cada amostra e apresenta-se a seguir:

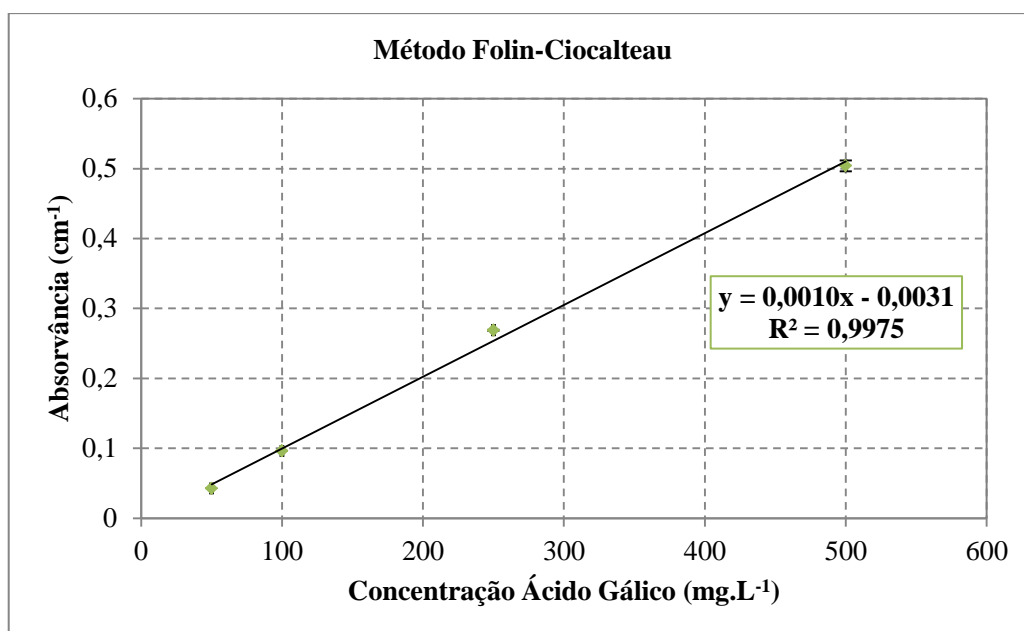
$$y = 1,0283 x + 51,9797 \quad (\text{III.3})$$

Em que x é o valor de CQO experimental e y é o valor corrigido.

## **III.2.2 Determinação do conteúdo em compostos fenólicos**

### **III.2.2.1 Método de Folin-Ciocalteu**

De forma a estabelecer um valor padronizado para a concentração de compostos fenólicos, foi traçada uma recta (Figura III.11.) utilizando o ácido gálico como padrão de concentração variando entre 50 e 500 mg.L<sup>-1</sup>. Foram realizadas três réplicas (n=3).



**Figura III.11. Recta de Calibração do ácido gálico para o método de Folin-Ciocalteu (n=3)**

Obteve-se uma equação da recta que foi usada para determinar a concentração de fenóis totais (em equivalentes de ácido gálico) na água de cozedura

$$y = 0,0010x - 0,0031 \quad (\text{III.4})$$

Em que x representa a concentração de ácido gálico e y a sua absorvância correspondente, a 765 nm.

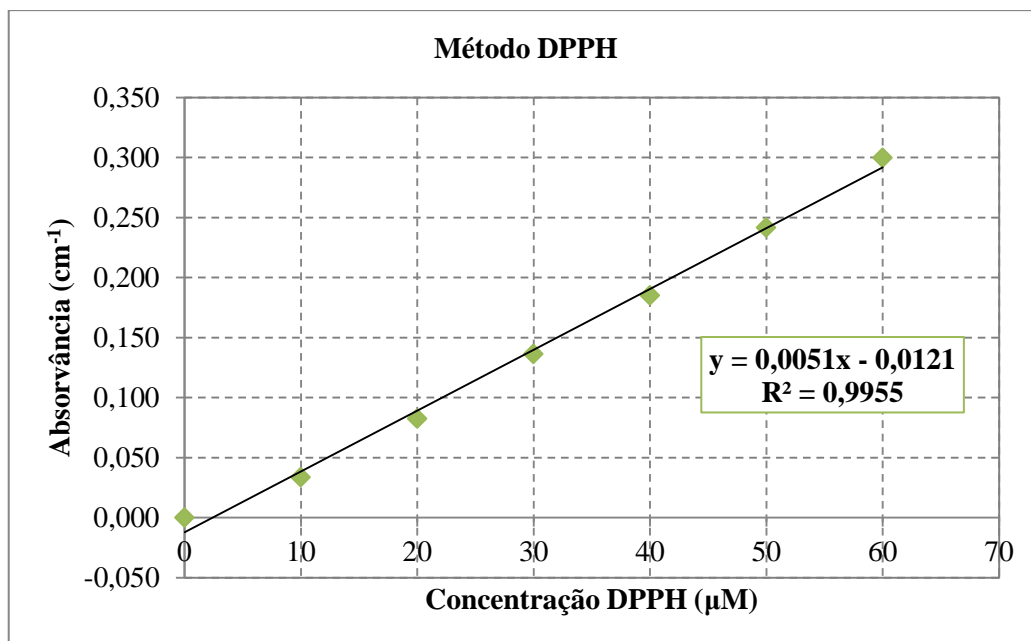
### III.2.3 Determinação da actividade antioxidante

#### III.2.3.1 Estudo do sequestro do radical DPPH<sup>•</sup>

A determinação experimental da actividade antioxidante pelo sequestro do radical DPPH<sup>•</sup> pode ser afectada por erros experimentais que ocorrem, muitas vezes, devido à luz, oxigénio, pH e tipo de solvente. Para minimizar este tipo de erros, efectuou-se uma calibração com concentrações de solução de DPPH que variaram entre 0 e 60 µM.

Em ambiente escuro, colocaram-se 4 mL de diferentes concentrações (0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 µM) numa *cuvette* e leram-se as absorvâncias a 515 nm. Foram realizadas três réplicas para cada uma das concentrações.

Na Figura III.12., estão representados graficamente as absorvâncias (cm<sup>-1</sup>) obtidas para cada uma das concentrações de solução de DPPH utilizadas.



**Figura III.12. Recta de Calibração para o método de sequestro do radical DPPH• (n=3)**

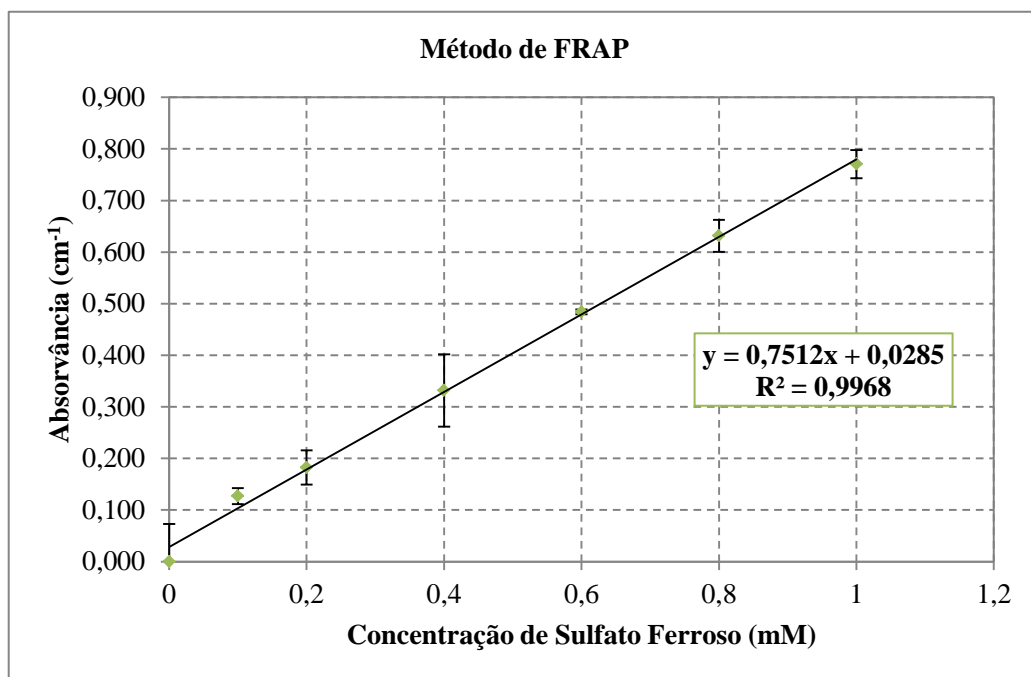
Obteve-se, então, uma equação da recta.

$$y = 0,0051 x - 0,0121 \quad (\text{III.6})$$

### **III.2.3.2 Poder Redutor Férrico (FRAP)**

A actividade antioxidante é avaliada em termos de concentração em equivalentes de sulfato ferroso. Sendo assim, foram medidas as absorvâncias de uma solução de sulfato ferroso (1 mM) como padrão com diferentes concentrações, variando entre 0 e 1 mM. Foram feitas três réplicas para cada um das concentrações (n=3).

Na Figura III.13., estão representados os valores obtidos.



**Figura III.13. Recta de Calibração do sulfato ferroso para o método de FRAP (n=3)**

Obteve-se uma equação da recta que foi usada para determinar a capacidade antioxidante (em equivalentes de sulfato ferroso) na água de cozedura

$$y = 0,7512 x + 0,0285 \quad (\text{III.7})$$

Em que x representa a concentração de sulfato ferroso e y a sua absorvância correspondente, a 593 nm.

### III.3 Doses absorvidas e débitos de dose

Foram realizadas três irradiações na Precisa 22, em Junho e Julho de 2011, em três níveis diferentes: nível 1, 2 e 3, com débitos de dose diferentes. Cada irradiação foi realizada a quatro doses diferentes, 2, 10, 20 e 50 kGy.

Na Tabela III.3 mostram-se os valores obtidos tanto para as doses absorvidas, como para os débitos de dose aproximados para cada nível.

**Tabela III.3. Doses absorvidas e respectivos débitos de dose aproximados para cada nível de irradiação**

Nível	Dose prevista (kGy)	Dose absorvida (kGy)	Débito de dose (kGy.h <sup>-1</sup> )
1	2	2,28	0,4
1	10	7,74	
1	20	17,09	
1	50	49,16	
2	2	2,63	2,4
2	10	9,61	
2	20	19,77	
2	50	52,09	
3	2	1,91	Variável entre 1,33 e 2,33
3	10	6,57	
3	20	12,25	
3	40	25,05	

Pela observação da Tabela III.3, verifica-se que as doses absorvidas obtidas foram muito próximas das estimadas, com excepção da irradiação do nível 3, em que as doses absorvidas são muito inferiores às previstas. Este resultado pode estar relacionado com o posicionamento das amostras em relação às fontes de cobalto-60. Contudo, é necessário realizar estudos dosimétricos para verificar os débitos de dose nestas posições. Sendo assim, entendeu-se que os resultados obtidos com a irradiação no nível 3 não deveriam ser incluídos na análise dos resultados seguinte, pelo que estes se encontram em anexo (anexo G).

### **III.4 Resultados experimentais do estudo do impacto da radiação gama nas propriedades das águas de cozedura**

Até à data, não existem estudos relativos ao efeito da radiação gama na actividade antioxidante dos compostos presentes em águas de cozedura de cortiça, o que faz com que este seja o primeiro trabalho realizado sobre esta matéria.

Pela análise estatística (ANOVA), existem diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os resultados obtidos para as duas irradiações realizadas e, por isso, conclui-se que a diferença de débitos de dose tem influência no comportamento dos compostos antioxidantes das águas de cozedura de cortiça quando estas são irradiadas. Para a análise da Carência Química de Oxigénio (CQO), onde não existem diferenças significativas entre os resultados, conclui-se que a diferença de débitos de dose não influencia a quantidade de matéria orgânica oxidável presente nas águas de cozedura de cortiça.

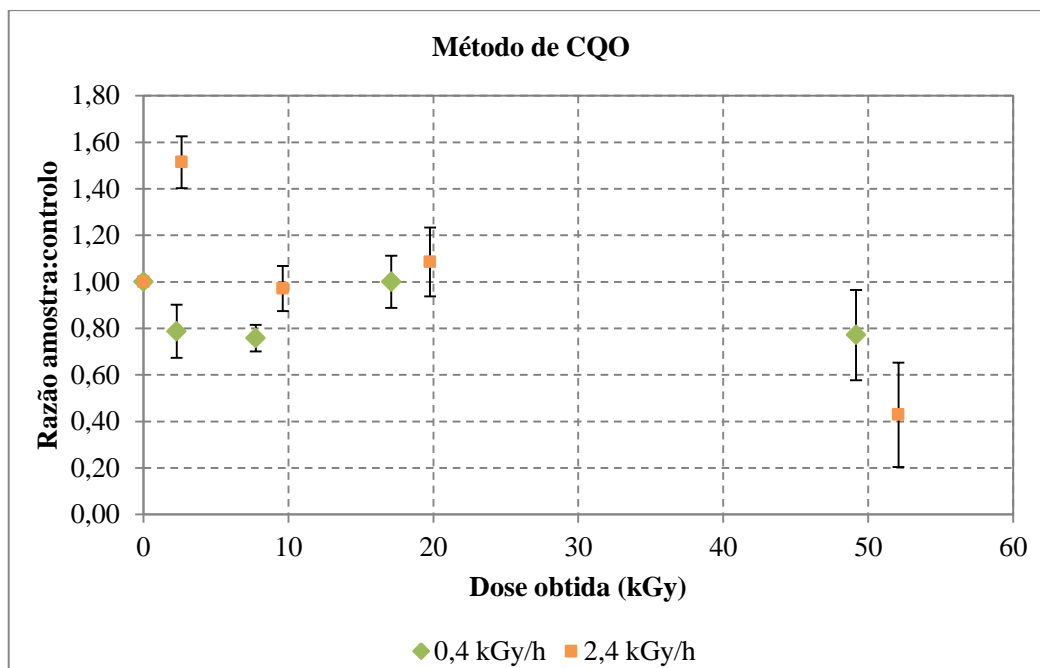
Deste modo, apresentam-se os resultados obtidos para as duas irradiações separadamente e procede-se a uma análise dos mesmos. Os resultados são apresentados em termos de razões das amostras irradiadas (a diferentes doses) pela amostra de controlo (amostra não irradiada), para simplificar a interpretação dos resultados.

#### **III.4.1 Caracterização físico-química das águas de cozedura de cortiça**

##### ***III.4.1.1 Carência Química de Oxigénio***

A CQO indica a quantidade de oxigénio que seria consumido através de reacções químicas de oxidação de diversos compostos presentes, sem a intervenção de microrganismos, indicando, de maneira indirecta, a quantidade de matéria orgânica presente na amostra.

Na Figura III.14. estão representadas as razões obtidas entre a quantidade de matéria orgânica das amostras irradiadas e a amostra de controlo, em função da dose de irradiação. Estes ensaios foram feitos em triplicado.



**Figura III.14. Variação da quantidade de matéria orgânica com o aumento da dose de irradiação, para as duas irradiações (n=3,  $\alpha=0,05$ )**

Como se pode observar, não existem diferenças significativas entre as médias obtidas, excepto para a dose de 10 kGy. Para a irradiação a  $2,4 \text{ kGy.h}^{-1}$  e com a dose de 2 kGy, o valor de CQO é maior do que o valor da amostra não irradiada, enquanto que para doses mais altas os valores de CQO diminuem para ambas as irradiações. Esta diminuição pode estar associada com a oxidação da matéria pelas espécies reactivas, que levam à diminuição da matéria orgânica oxidável. O aumento do valor de CQO a 2 kGy poderá ser explicado pelo efeito da radiação induzida na degradação de moléculas, que provoca um aumento do número de moléculas de baixo peso molecular.

A quantidade de matéria orgânica presente nas amostras não irradiadas obtida neste trabalho é  $2197 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$ . Este valor é inferior aos descritos na literatura. Dias Machado et al. [64] reportaram que as águas de cozedura cortiça continham entre 2300 e 4600 mg de oxigénio consumido por litro de amostra. Guedes et al. [65] também observaram que a quantidade de oxigénio consumido em águas residuais de cortiça é superior ( $5000 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$ ) ao obtido neste trabalho. Mendonça et al. [66] obtiveram valores entre 4690 e  $12610 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$  para as nove amostras de águas de cozedura de cortiça que estudaram.

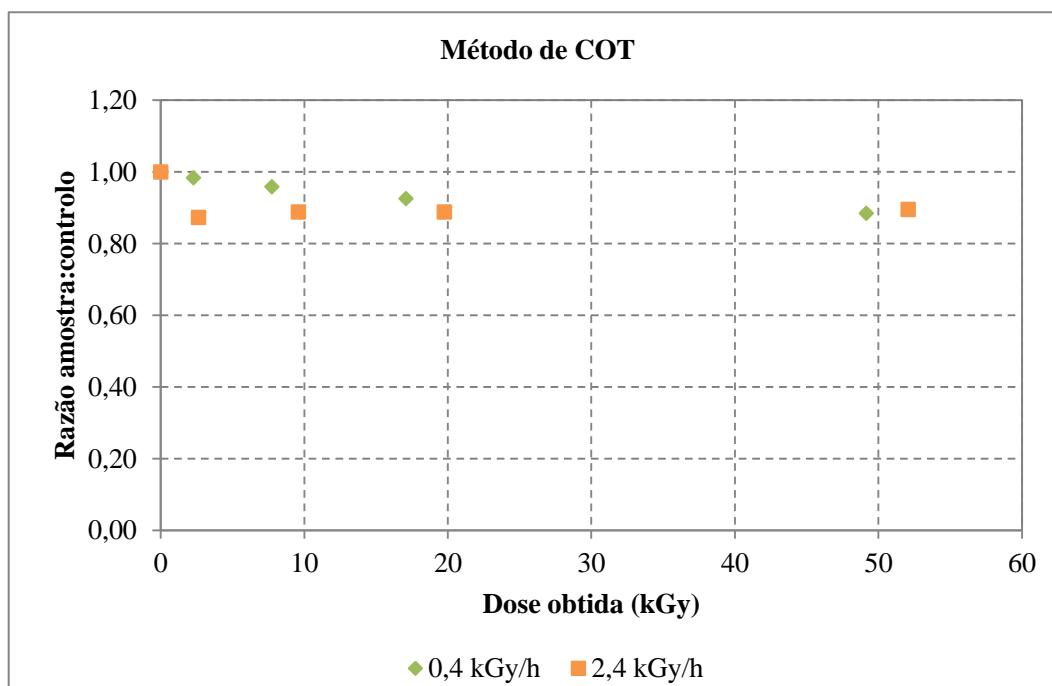
Relativamente ao efeito da radiação gama, Melo et al. [67] encontraram um comportamento semelhante ao aqui observado (diminuição da matéria orgânica para altas doses de radiação) em águas residuais de um matadouro. Bao et al. [68] também relataram que a CQO diminuía com a radiação gama.



### III.4.1.2 Carbono orgânico total

O método de COT mede a concentração de carbono presente nas amostras de água de cozedura da cortiça.

A Figura III.15. representa as razões do carbono orgânico total em função das doses absorvidas em cada uma das irradiações (n=1).



**Figura III.15. Razão do carbono orgânico total presente nas amostras irradiadas pela amostra não irradiada para as duas irradiações (n=1)**

Analisando este gráfico, conclui-se que o carbono orgânico diminui com o aumento das doses de radiação, embora esta diminuição não seja muito acentuada (cerca de 12% a 50 kGy).

Segundo Getoff [46], devido à interacção entre a radiação gama e a água, são produzidas poderosas espécies oxidantes e redutoras (como OH,  $e_{aq}^-$ , H) e produtos moleculares (como H<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Estas espécies altamente reactivas podem interagir quimicamente entre si ou com outras moléculas próximas, podendo danificá-las ou passar a disputar electrões com o meio. Assim, há uma diminuição da matéria orgânica e, portanto, a concentração de carbono orgânico (pela medição de CO<sub>2</sub>) também diminui.

Os valores obtidos para a amostra não irradiada (1250 mgCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>) são semelhantes aos encontrados na literatura. Em investigações anteriores, Dias Machado et al. [64] e Guedes et al. [65] obtiveram valores entre 1220 e 2000 mgCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> e 1505 mgCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>, respectivamente, para o carbono orgânico total presente em amostras não irradiadas de águas de cozedura de cortiça. No entanto, Mendonça et al. [66] descreveram valores de carbono orgânico total superiores aos aqui

descritos, que variavam entre 1791 e 4421 mgCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>. Silva et al. [69] observaram um COT de 1890 mgCO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>, pelo que o obtido neste trabalho é um pouco mais baixo.

#### **III.4.1.3 Medição de pH**

Após irradiação, as diferenças não são consideráveis (Tabela III.4.) pelo que se pode concluir que a radiação gama não altera o pH das amostras de água de cozedura de cortiça.

<b>Tabela III.4. Valores obtidos na medição do pH das amostras</b>			
<b>0,4 kGy.h<sup>-1</sup></b>		<b>2,5 kGy.h<sup>-1</sup></b>	
<b>Dose obtida (kGy)</b>	<b>pH</b>	<b>Dose obtida (kGy)</b>	<b>pH</b>
0	4,86	0	4,86
2,28	4,67	2,63	4,93
7,74	4,80	9,61	5,12
17,09	4,66	19,77	5,13
49,16	4,37	52,09	5,03

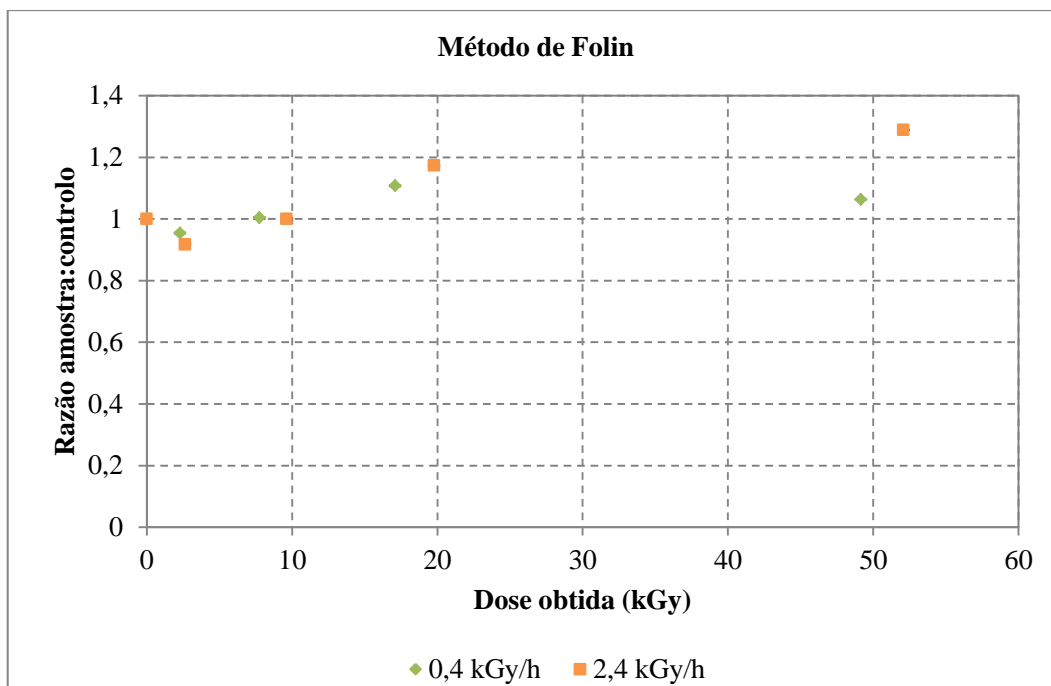
Para as amostras não irradiadas, os valores de pH são semelhantes aos descritos na literatura [64] [66], que descrevem valores entre 4,7 e 5,7.

### **III.4.2 Determinação do conteúdo em compostos fenólicos**

#### **III.4.2.1 Método de Folin-Ciocalteu**

Na Figura III.16. está representado o comportamento dos compostos fenólicos presentes nas águas de cozedura de cortiça, com o aumento da dose de radiação.

Estes ensaios foram realizados em triplicado.



**Figura III.16. Variação da quantidade de compostos fenólicos com o aumento da dose de irradiação (n=3;  $\alpha=0,05$ )**

Pela análise estatística, existem diferenças significativas ( $p<0,05$ ) entre os valores médios para os dois débitos de dose diferentes e com o aumento da dose de radiação.

Como se pode observar pelo gráfico, o comportamento para as duas irradiações é semelhante. A quantidade de compostos fenólicos a 2 kGy diminui em relação à quantidade de compostos fenólicos da amostra não irradiada, embora para doses mais altas esta quantidade aumente. O pico máximo de compostos fenólicos é atingido a 50 kGy (valor absoluto de 643 mg EAG.L<sup>-1</sup>) para a irradiação com débito de dose de 2,4 kGy.h<sup>-1</sup> e para a de 0,4 kGy.h<sup>-1</sup> é atingido a 20 kGy (valor absoluto de 681 mg EAG.L<sup>-1</sup>).

Os valores absolutos obtidos neste trabalho para amostras não irradiadas (614 mg EAG.L<sup>-1</sup> para 0,4 kGy.h<sup>-1</sup> e 499 mg EAG.L<sup>-1</sup> para 2,4 kGy.h<sup>-1</sup>) são inferiores aos obtidos por Dias Machado et al. [64] (660-780 mg de ácido tânico por litro de amostra). Também Costa C. [70] descreveu o valor encontrado para o conteúdo em polifenóis neste tipo de águas como 860 mg.L<sup>-1</sup>.

Conclui-se, então, que a radiação gama provoca um aumento do conteúdo em compostos fenólicos. Os taninos são moléculas de estrutura complexa de elevado peso molecular e estão largamente presentes nas águas de cozedura de cortiça [71]. Este facto, em conjunto com o efeito de cissão molecular da radiação gama, poderá explicar o aumento do conteúdo em compostos fenólicos, ou seja, a quebra dos taninos, sem destruição do anel benzénico, leva ao aumento de pequenas estruturas fenólicas.

Além disso, este método não é um método específico, uma vez que detecta todos os grupos fenólicos presentes nas amostras, podendo detectar também substâncias redutoras. Este facto também poderá explicar o aumento dos compostos fenólicos presentes nas amostras de água, bem como este comportamento ser contrário ao da matéria orgânica, já que seria expectável que os compostos fenólicos diminuíssem se a matéria orgânica diminui. Além disso, o método de Folin-Ciocalteu revela a presença de compostos fenólicos, mas não indica quais são.

Como se pode observar pelos resultados obtidos relativamente à caracterização físico-química e dos compostos fenólicos presentes, os valores absolutos para as amostras que não são sujeitas a irradiação e que, ao mesmo tempo, servem de controlo, são mais baixos do que os valores médios resultantes da caracterização das águas residuais da cozedura da cortiça, divulgados no Manual de Boas Práticas Ambientais e Energéticas – Indústria de Cortiça, da Associação Empresarial Portuguesa (AEP, 2000) (Tabela III.5.).

**Tabela III.5. Caracterização das águas residuais da cozedura da cortiça (AEP, 2000)**

Parâmetro	Unidade	Valores médios (ANIEC)	Valores médios (CTCOR)	Valores experimentais
pH	Escala Sørensen	4,5-5,5	4,62	4,86
CQO	mgO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	4500-5500	5093	2160
Polifenóis	mg ácido tânico.L <sup>-1</sup>	600-900	857	499-614 (mg ácido gálico.L <sup>-1</sup> )

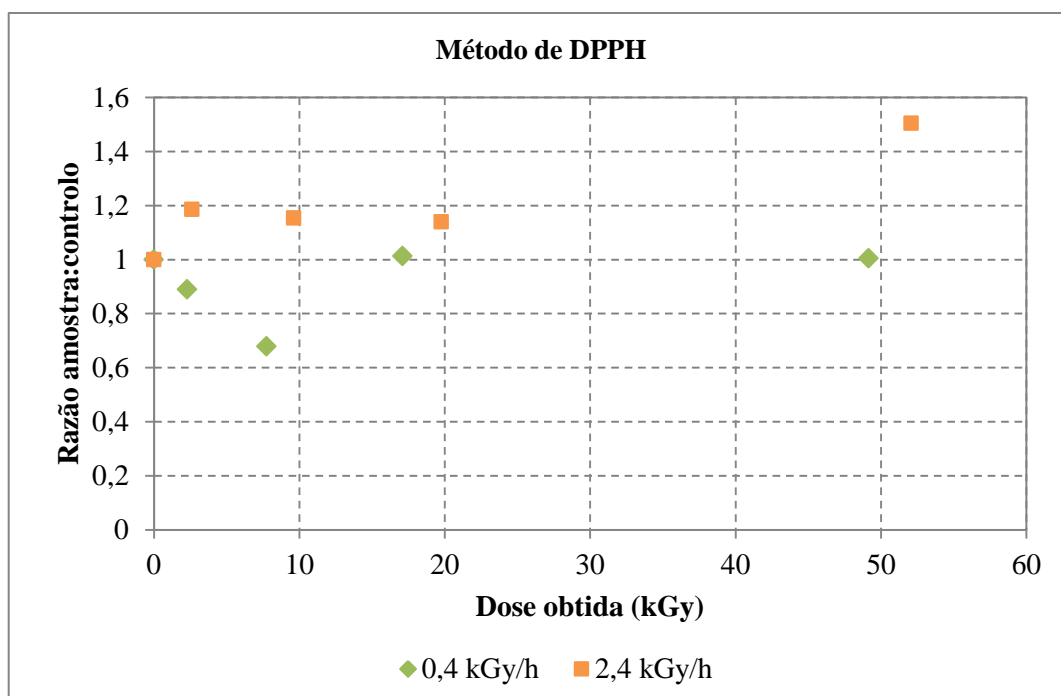
Na Fabricor Indústria Preparação e Transformação de Cortiça S.A., em cada ciclo de cozedura realizado ocorre um processo de filtração, pelo que muitos compostos fenólicos ficam retidos nas lamas. Assim, é espectável que esta quantidade diminua e que os valores de CQO e fenólicos totais deste trabalho sejam mais baixos dos que os apresentados no relatório da AEP. O valor de pH obtido neste trabalho é 4,86, ligeiramente superior ao valor divulgado no relatório (pH 4,62), corroborando com os valores mais baixos em ácidos fenólicos presentes nesta amostra.

### **III.4.3 Determinação da actividade antioxidante**

#### **III.4.3.1 Estudo do sequestro do radical DPPH<sup>•</sup>**

A actividade de captura do radical por parte, por exemplo, dos ácidos fenólicos depende do número de grupos hidroxilo que estão ligados ao anel aromático.

Na Figura III.17. estão representadas as razões da actividade antioxidante (amostra irradiada pela amostra não irradiada) em função da dose de irradiação, para cada uma das irradiações. Foram feitas três réplicas para cada uma das amostras, irradiadas e não irradiadas.



**Figura III.17. Efeito da radiação na capacidade antioxidante dos antioxidantes das águas de cozedura da cortiça, pelo método de sequestro do radical DPPH (n=3;  $\alpha=0,05$ )**

Observando a Figura III.17., conclui-se que existem diferenças significativas ( $p<0,05$ ) entre os valores médios para as duas irradiações, tanto com o aumento da dose como entre débitos de dose.

Como se pode observar, os resultados mostram um aumento significativo da actividade antioxidante para um débito de dose de  $2,4 \text{ kGy.h}^{-1}$ , o que corrobora com os resultados obtidos para os compostos fenólicos.

Porém, para um débito de dose de  $0,4 \text{ kGy.h}^{-1}$ , não se observam alterações na actividade antioxidante dos compostos presentes. Uma possível explicação para este resultado é a inacessibilidade estérica do DPPH<sup>•</sup> [43]: apenas moléculas pequenas conseguem alcançar o radical. Débitos de dose mais baixos ( $0,4 \text{ kGy.h}^{-1}$ ) podem não ser capazes de destruir os anéis benzénicos dos compostos mais complexos e, por isso, não se formam moléculas tão pequenas que tenham acesso ao radical. Isto poderá levar a que alguns compostos não consigam reduzi-lo e, por isso, a actividade antioxidante não sofre alterações.

Não são conhecidos estudos sobre a actividade antioxidante das águas de cozedura de cortiça. No entanto, alguns estudos [73] contrariam os métodos de descoloração, como é o caso do DPPH, com o argumento de que quanto mais cor existe numa amostra, menos diminui a absorvância e menos

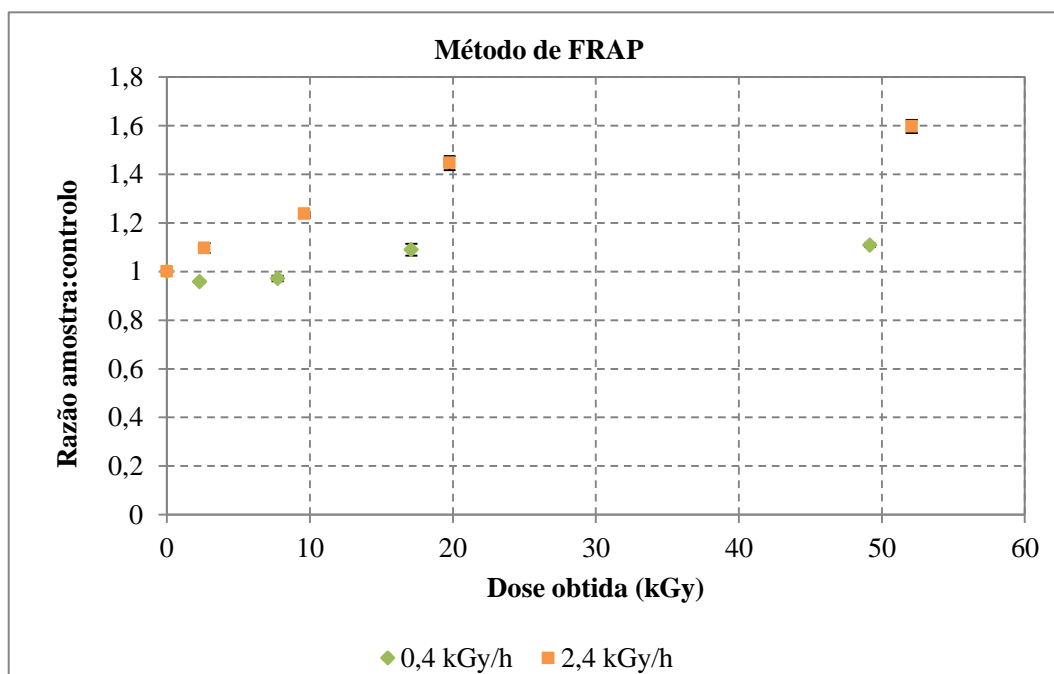
actividade antioxidante será medida. Além disso, este método detecta apenas os antioxidantes que são solúveis em solventes orgânicos [73], pois a solução de DPPH é uma solução alcoólica.

No entanto, segundo algumas pesquisas realizadas, a quantidade de compostos que reagem com o DPPH está relacionada com a concentração de compostos fenólicos [72]. Assim, estes resultados corroboram com os resultados descritos na literatura.

#### III.4.3.2 Poder Redutor Férrico (FRAP)

Na Figura III.18. estão representadas as razões das amostras irradiadas pela amostra de controlo, em função da dose de irradiação.

Os ensaios foram feitos em triplicado.



**Figura III.18. Actividade antioxidante das amostras irradiadas e não irradiadas para as duas irradiações (n=3;  $\alpha=0,05$ )**

Pela Figura III.18. e pela análise dos resultados, constata-se que existem diferenças significativas ( $p<0,05$ ) entre os resultados obtidos, pelo que se pode concluir que, pelo Método FRAP, a radiação gama provoca um aumento na actividade antioxidante das águas de cozedura de cortiça.

No entanto, o comportamento não é o mesmo para as duas irradiações. Enquanto na irradiação realizada com um débito de dose de  $2,4 \text{ kGy.h}^{-1}$  o aumento é linear, na irradiação a um débito de dose de  $0,4 \text{ kGy.h}^{-1}$ , a 2 e 10 kGy a actividade antioxidante diminui em relação à actividade antioxidante da amostra não irradiada e aumenta para doses mais altas. O aumento induzido pela

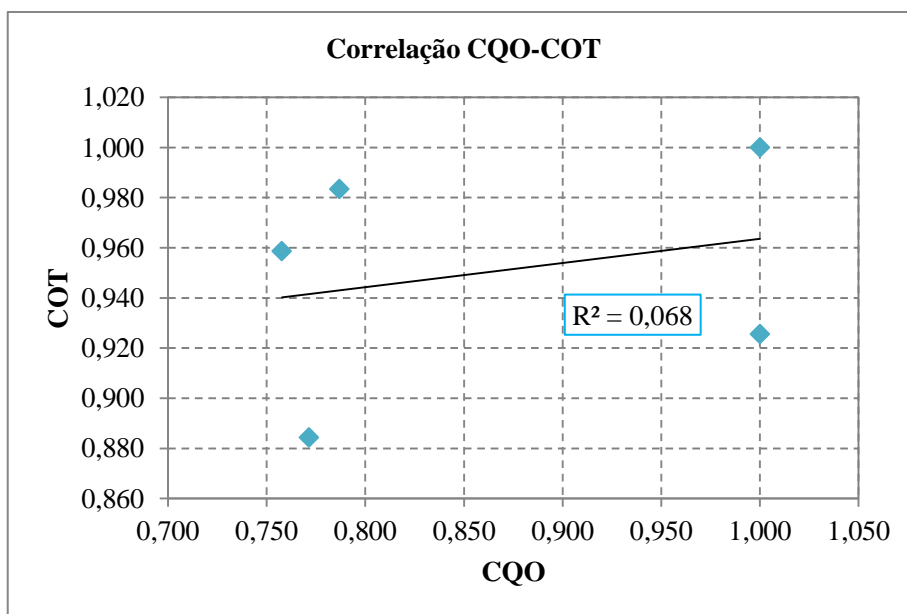
radiação gama na actividade antioxidante pode ser o resultado do aumento da quantidade de compostos fenólicos presentes nas amostras a estas doses.

Não existem estudos sobre o efeito da radiação gama no poder redutor férrico das águas de cozedura da cortiça.

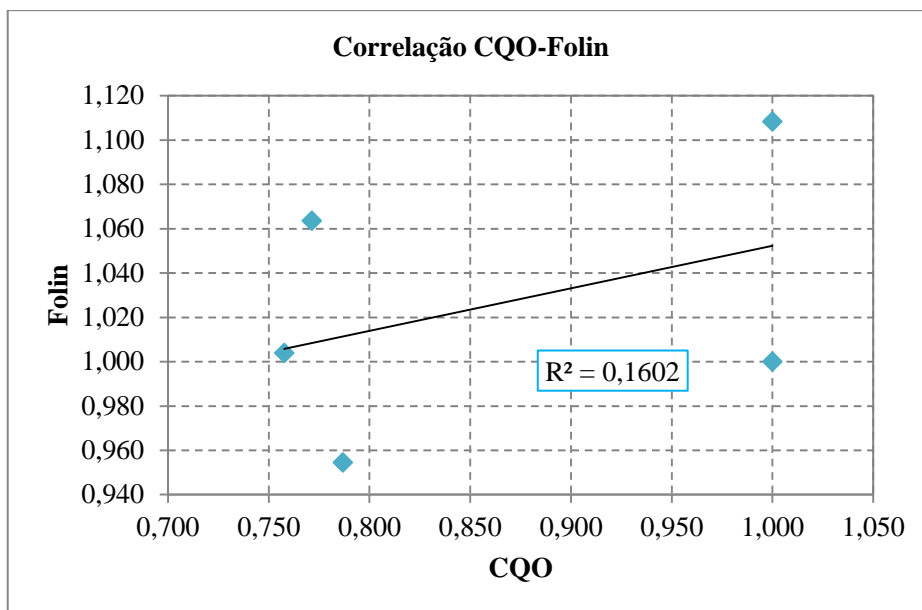
### III.5 Correlação Linear de Pearson

Depois de analisados os parâmetros avaliadores das águas de cozedura de cortiça, estes são comparados para avaliar as correlações existentes entre eles. Deste modo, representam-se os diagramas de dispersão relacionando todos os parâmetros entre si e calculam-se os coeficientes de correlação de Pearson. Os coeficientes de Pearson ( $r$ ) são calculados através da raíz quadrada do coeficiente de correlação da regressão linear obtida para cada conjunto de valores ( $R^2$ ).

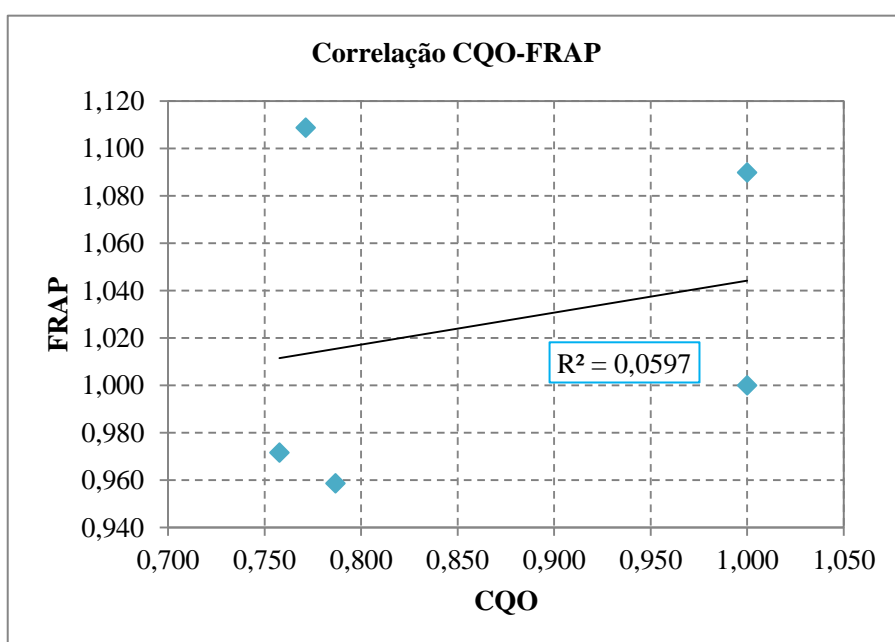
Na Figura III.19 a Figura III.24., estão representados os diagramas de dispersão referentes aos parâmetros analisados para um débito de dose de 0,4 kGy.h<sup>-1</sup>.



**Figura III.19. Correlação fraca positiva entre os parâmetros CQO e COT ( $r=0,260$ )**

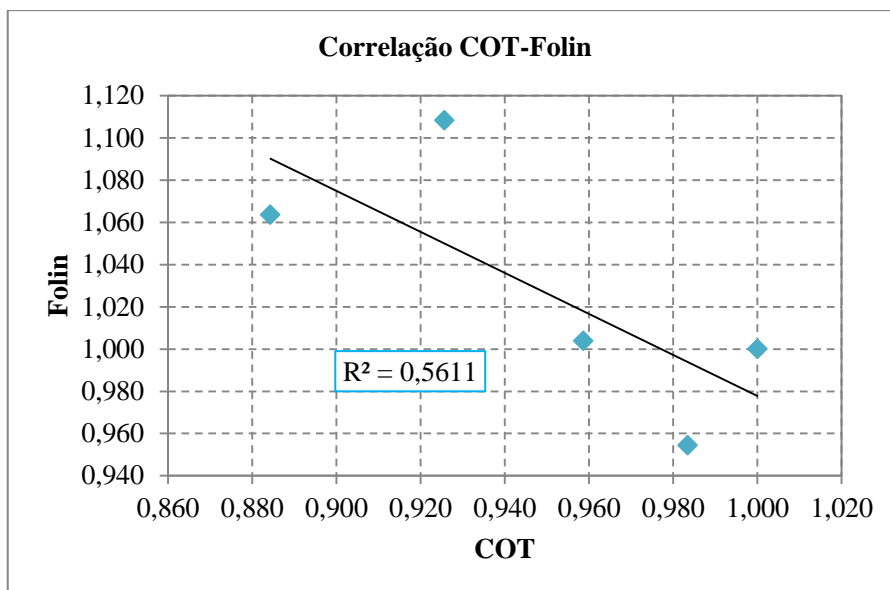


**Figura III.20. Correlação fraca positiva entre os parâmetros CQO e Folin ( $r=0,400$ )**

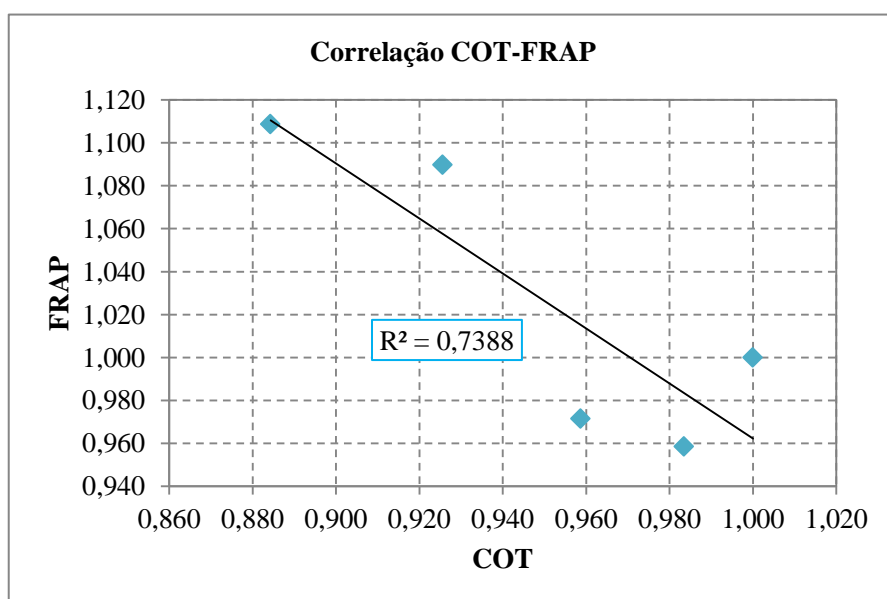


**Figura III.21. Correlação fraca positiva entre os parâmetros CQO e FRAP ( $r=0,244$ )**

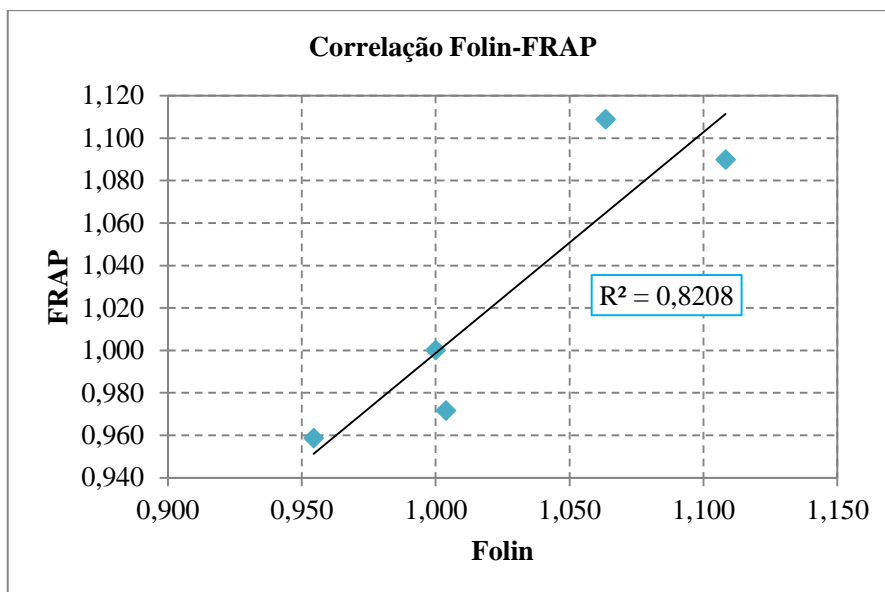




**Figura III.22. Correlação moderada e negativa entre os parâmetros COT e Folin ( $r=-0,749$ )**

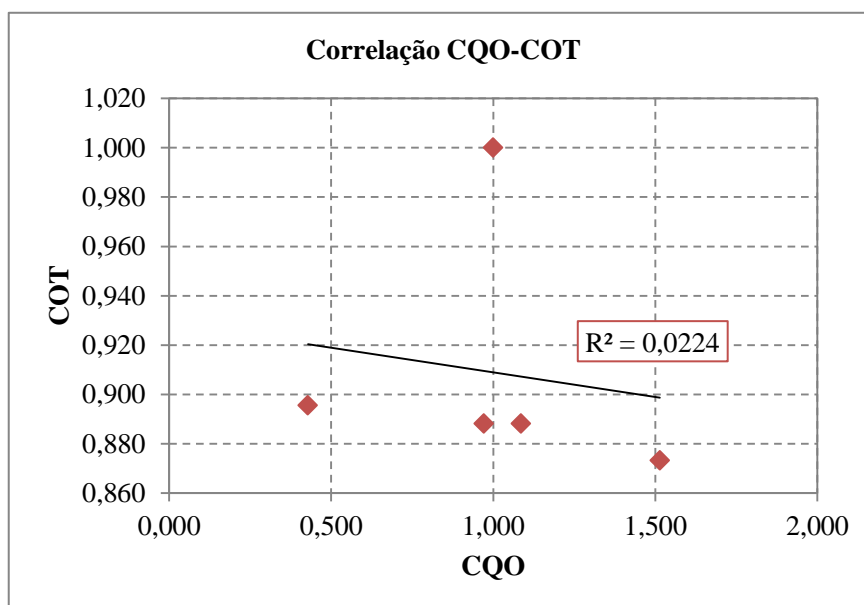


**Figura III.23. Correlação forte e negativa entre os parâmetros COT e FRAP ( $r=-0,860$ )**

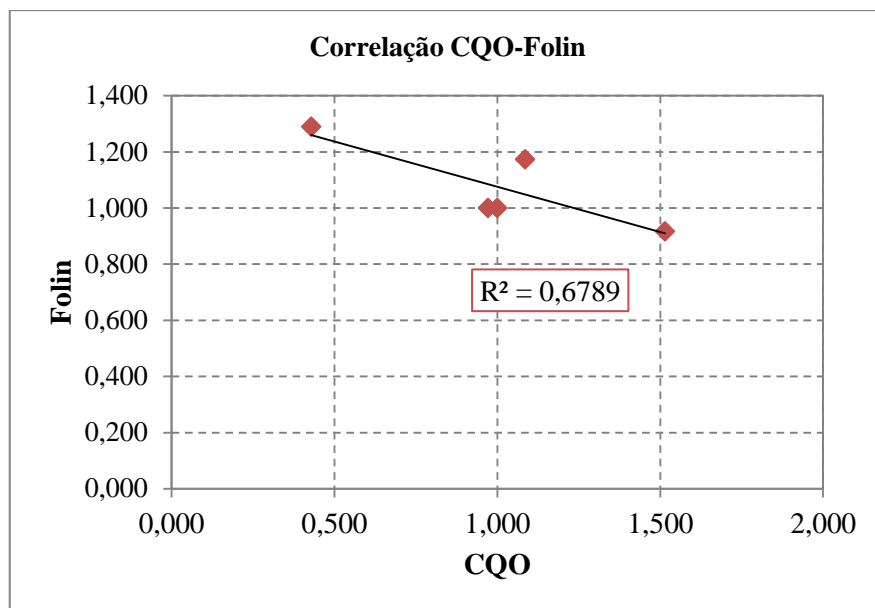


**Figura III.24. Correlação forte e positiva entre os parâmetros Folin e FRAP ( $r=0,906$ )**

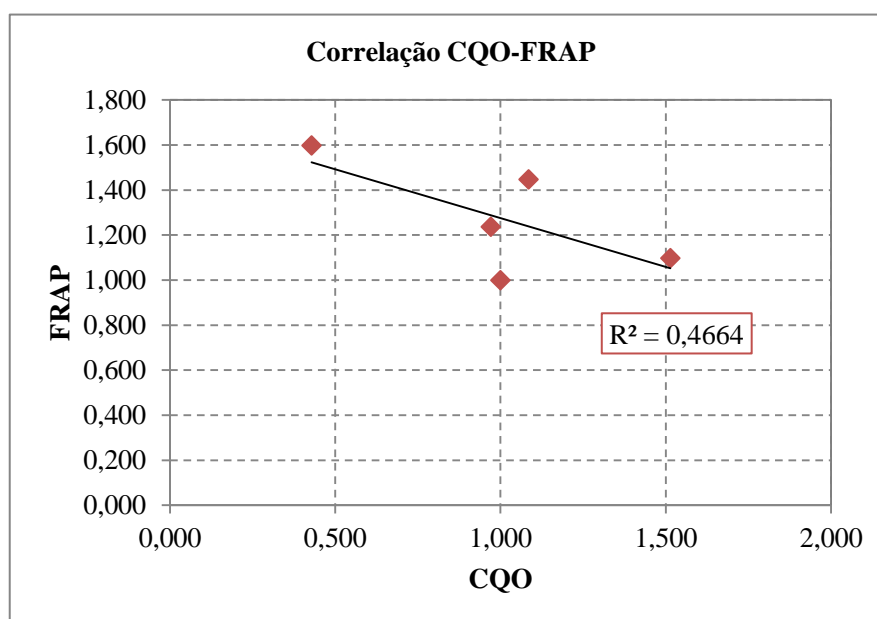
Na Figura III.25 a Figura III.30. estão apresentados os diagramas de dispersão referentes à irradiação com débito de dose de  $2,4 \text{ kGy.h}^{-1}$ .



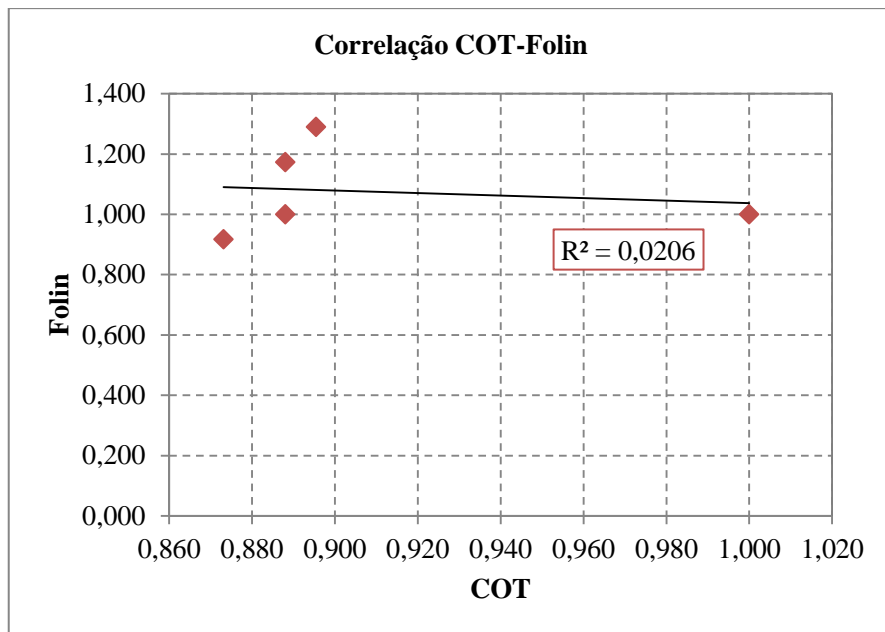
**Figura III.25. Correlação fraca e negativa entre os parâmetros CQO e COT ( $r=-0,150$ )**



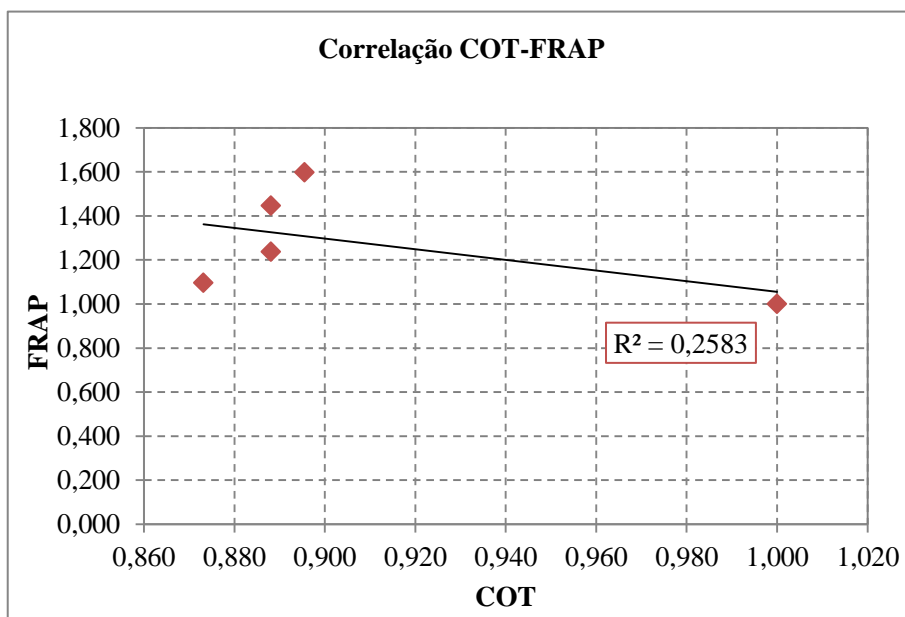
**Figura III.26. Correlação forte e negativa entre os parâmetros CQO e Folin ( $r=-0,824$ )**



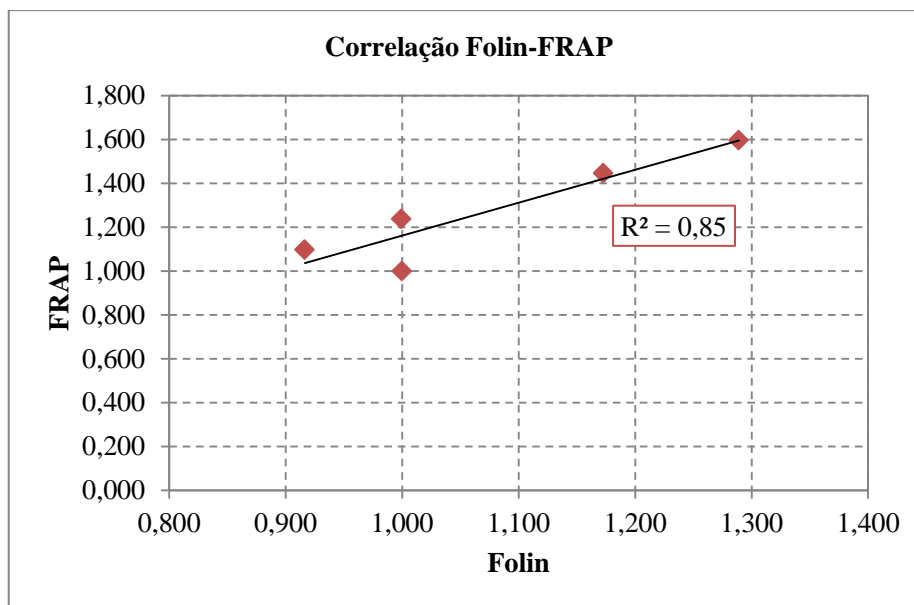
**Figura III.27. Correlação moderada e negativa entre os parâmetros CQO e FRAP ( $r=-0,683$ )**



**Figura III.28. Correlação fraca e negativa entre os parâmetros COT e Folin ( $r=-0,144$ )**



**Figura III.29. Correlação moderada e negativa entre os parâmetros COT e FRAP ( $r=-0,508$ )**



**Figura III.30. Correlação forte e positiva entre os parâmetros Folin e FRAP ( $r=0,922$ )**

Na Tabela III.6. apresenta-se um resumo dos coeficientes de correlação de Pearson obtidos para cada um dos débitos de dose estudados.

**Tabela III.6. Coeficientes de correlação de Pearson para os vários métodos, para as duas irradiações**

	0,4 kGy.h <sup>-1</sup>	2,4 kGy.h <sup>-1</sup>
Método	Coeficiente de Pearson	Coeficiente de Pearson
CQO/COT	0,260	-0,150
CQO/Fenólicos Totais	0,400	-0,824
CQO/FRAP	0,244	-0,683
COT/Fenólicos Totais	-0,749	-0,144
COT/FRAP	-0,860	-0,508
Fenólicos Totais/FRAP	0,906	0,922

Pela análise da Tabela III.6., a correlação entre a quantidade de matéria orgânica e o conteúdo em compostos fenólicos é fraca e positiva (0,400) para a irradiação com débito de dose de 0,4 kGy.h<sup>-1</sup>, indicando que não existe uma relação significativa entre os dois parâmetros. Para a irradiação com

débito de dose de  $2,4 \text{ kGy.h}^{-1}$ , a correlação é forte e negativa (-0,824), indicando que quando uma das variáveis aumenta, a outra variável diminui.

As correlações entre a quantidade de matéria orgânica e os restantes parâmetros, para a irradiação com débito de dose de  $0,4 \text{ kGy.h}^{-1}$ , são fracas e positivas. Para a irradiação com débito de dose de  $2,4 \text{ kGy.h}^{-1}$ , a correlação entre a quantidade de matéria orgânica e o carbono orgânico total é fraca e negativa e a correlação entre a quantidade de matéria orgânica e a actividade antioxidante pelo método FRAP é moderada e negativa.

As correlações entre o conteúdo em carbono orgânico e a quantidade de fenólicos e a actividade antioxidante destes compostos são negativas, pelo que se conclui que não há relação entre eles. Os compostos mais complexos podem não ter sido quantificados pelo método de COT utilizado.

A correlação entre o conteúdo em compostos fenólicos e a actividade antioxidante (pelo método FRAP) é forte e positiva para as duas irradiações (0,906 e 0,922). Os resultados apontam para que os compostos fenólicos sejam os principais compostos responsáveis pela actividade antioxidante das águas de cozedura de cortiça. No entanto, é importante realçar que diferentes tipos de compostos fenólicos têm diferentes actividades antioxidantes, que dependem da sua estrutura. Neste trabalho, infelizmente não foi possível caracterizar os compostos presentes nas águas, antes e após irradiação, durante o período de tempo disponível para a sua realização (seis meses).

## CAPÍTULO IV

### IV. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

Numa Indústria de Transformação de Cortiça são produzidas grandes quantidades de águas de cozedura, que apresentam uma composição complexa e variada, devido designadamente à presença de polifenóis, como taninos, ácidos benzóicos e cinâmicos, muitos destes com uma elevada actividade antioxidante. Foi, principalmente, na actividade antioxidante que incidiu o trabalho desenvolvido.

Dependendo da dose absorvida e do débito de dose, a radiação gama causa *stress* oxidativo e afecta as moléculas provocando modificações na sua estrutura, quebrando as ligações e formando espécies reactivas que causam oxidação química.

Neste trabalho, irradiou-se uma amostra de água de cozedura de cortiça com dois débitos de dose diferentes,  $0,4 \text{ kGy.h}^{-1}$  e  $2,4 \text{ kGy.h}^{-1}$  e quatro doses diferentes (2, 10, 20, 50 kGy), sendo o controlo a amostra não irradiada. Foi feita uma terceira irradiação, mas os débitos de dose obtidos foram muito variáveis e, por isso, os resultados obtidos não foram considerados.

Os valores absolutos obtidos para as amostras que não são sujeitas a irradiação e que, ao mesmo tempo servem de controlo, são mais baixos do que os valores médios divulgados no Relatório da Associação Empresarial Portuguesa (AEP, 2000), relativo à caracterização das águas residuais da cozedura da cortiça. Esta situação pode estar associada ao facto da empresa Fabricor Indústria Preparação e Transformação de Cortiça S.A. possuir um sistema de cozedura mais sofisticado, ocorrendo um processo de filtração em cada ciclo de cozedura realizado. Isto faz com que alguns compostos fenólicos fiquem retidos nas lamas e se justifiquem os valores mais baixos de quantidade de matéria orgânica e compostos fenólicos presentes, bem como o valor mais alto de pH (4,86) obtido.

A quantidade de matéria orgânica foi avaliada por dois métodos: a Carência Química de Oxigénio (CQO) e o Carbono Orgânico Total (COT). Pelos dois métodos, a concentração de matéria orgânica diminuiu, embora para o COT a diminuição não seja muito acentuada (cerca de 12% para 50 kGy). Com a interacção da radiação com a água, produzem-se espécies reactivas que podem reagir com as moléculas presentes, provocando oxidação da matéria, o que pode levar à diminuição da matéria orgânica oxidável, pese embora o valor de carbono orgânico total não acompanhe a mesma diminuição (quebra de moléculas orgânicas em outras moléculas orgânicas de baixo peso molecular).

Relativamente à quantidade de compostos fenólicos, com um débito de dose de  $2,4 \text{ kGy.h}^{-1}$  o aumento é mais significativo (29% a 50 kGy) do que com um débito de dose de  $0,4 \text{ kGy.h}^{-1}$  (6% a 50 kGy).

Esperava-se que a quantidade de matéria orgânica e o conteúdo em compostos fenólicos apresentassem o mesmo comportamento quando as amostras de água são irradiadas, contrariamente ao que acontece. Isto pode dever-se ao facto de o método usado para a quantificação de compostos fenólicos (Folin-Ciocalteu) não ser um método específico, pois não garante que se determinem apenas compostos fenólicos, podendo também haver interferências por parte de substâncias redutoras presentes na amostra. Além disso, algumas substâncias inorgânicas, como os açúcares e ácidos gordos, também podem reagir com o reagente de Folin-Ciocalteu dando elevadas concentrações aparentes de compostos fenólicos.

O efeito da radiação gama na actividade antioxidante da amostra foi caracterizado através de dois métodos: Poder Redutor Férrico (FRAP) e Inibição do radical DPPH<sup>•</sup>.

Os resultados de FRAP mostram um aumento com a radiação à semelhança da concentração em compostos fenólicos. Porém, existem alguns tipos de antioxidantes que não são quantificados através deste método, uma vez que estes actuam através da transferência de hidrogénio e o método de FRAP ocorre pelo mecanismo de transferência de electrão.

Pelo método de inibição do radical DPPH<sup>•</sup>, a radiação gama provoca alterações na actividade antioxidante dos compostos presentes nas amostras de água de cozedura de cortiça, uma vez que se verifica o seu aumento nos dois débitos de dose estudados, corroborando com o aumento dos compostos fenólicos. Este método, apesar de ser bastante usado para a caracterização da actividade antioxidante, tem de ser interpretado com algum cuidado, pois as absorvâncias medidas depois da reacção do radical DPPH<sup>•</sup> com um antioxidante diminuem com a luz, oxigénio, pH e tipo de solvente. A molécula de DPPH<sup>•</sup> apresenta radicais de azoto centralizados, que é estabilizada pela presença de antioxidantes que lhe doam hidrogénio. Estes antioxidantes reagem com o DPPH<sup>•</sup> de diferentes maneiras, variando devido ao impedimento estérico ou pela presença e número de grupos hidroxilo existentes nos antioxidantes.

O efeito débito de dose é um aspecto muito importante no estudo realizado. A quantidade de matéria orgânica presente nas amostras de água não sofre alterações com os diferentes débitos de dose a que se realizam as irradiações. O conteúdo em compostos fenólicos varia consoante os débitos de dose que foram aplicados, concluindo-se que a um débito de dose maior a concentração de fenólicos é mais elevada. Este fenómeno pode ser explicado pelo facto de débitos de dose mais altos serem capazes de destruir o anel benzénico dos taninos e de outros fenólicos sem tempo de rearranjo das moléculas, aumentando a concentração de estruturas fenólicas mais pequenas. A actividade antioxidante, medida pelo método FRAP e pelo método de inibição do radical DPPH<sup>•</sup>,



também varia significativamente com os dois débitos de dose, sendo maior no débito de dose mais alto.

Por outro lado, tendo em conta apenas o aumento da dose de irradiação para cada uma das irradiações realizadas, conclui-se que apenas a quantidade de compostos fenólicos aumenta significativamente com o aumento da dose.

Futuramente, e pelo apresentado anteriormente, é importante que se desenvolvam métodos mais específicos para caracterizar o potencial das águas de cozedura da cortiça, bem como de outras amostras da mesma natureza, nomeadamente no que respeita ao estudo da sua actividade antioxidante. Este tipo de águas apresenta um elevado conteúdo em compostos fenólicos, que aumenta depois da irradiação das amostras. O aumento de polifenóis provoca um aumento da actividade antioxidante, sendo este um aspecto bastante importante. Em termos experimentais, o processo de extracção é muito importante para a separação e obtenção de antioxidantes. Após irradiação (com diferentes débitos de dose e diferentes doses) das águas, seria interessante caracterizar e extrair os antioxidantes presentes. Na escolha de um solvente teriam de ser estudados alguns aspectos relativos a cada antioxidante, mas também outros processos de extracção que forneçam bons rendimentos e mantenham as propriedades dos antioxidantes. Assim, reaproveitavam-se os compostos fenólicos e outros antioxidantes naturais para serem reutilizados em outras indústrias, nomeadamente, a Indústria Alimentar e Cosmética.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] VIEIRA, Henrique D., 2009. Análise de características da cortiça amadia relevantes para a sua qualidade industrial. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.
- [2] Associação Empresarial Portuguesa (AEP), 2000. Manual de Boas Práticas Ambientais e Energéticas – Indústria da Cortiça.
- [3] FACHADA, Ivone, 2006. Estudo da adaptabilidade da *Quercus suber* L. no Nordeste Transmontano. Dissertação de Mestrado. Instituto Politécnico de Bragança.
- [4] PESTANA, M., TINOCO, I, 2009. A Indústria e o Comércio da Cortiça em Portugal durante o século XX.
- [5] MINHALMA, M., DE PINHO, M. N., 2001. Flocculation/Flotation/Ultrafiltration integrated process for the treatment of cork processing wastewaters. **Environmental Science and Technology**, 35, p. 4916 – 4921.
- [6] GONÇALVES, J., AMARO, Ana Maria, GOMES, E., 2005. Volume III – A utilização e a valorização da propriedade industrial no sector da cortiça. Instituto Nacional da Propriedade Industrial.
- [7] Associação Portuguesa de Cortiça (APCOR), 2004. Cortiça: os Factos.
- [8] SILVA, S. P., SABINO, M. A., FERNANDES, E. M., CORRELO, V. M., BOESEL, L. F., REIS, R. L., 2005. Cork: properties, capabilities and applications. **International Materials Reviews**, vol. 50, p. 345 – 365.
- [9] GUEDES, Anabela, 1998. Oxidação Química com Reagente de Fenton: Aplicação às Águas de Cozimento da Cortiça. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- [10] BENITEZ, F. J., ACERO, J. L., GARCIA, J., LEAL, A. I., 2003. Purification of cork processing wastewaters by ozone, by activated sludge and by their two sequential applications. **Water Research**, 37, p. 4081 – 4090.
- [11] PODGORSK, Ervin B, 2010. Radiation Physics for Medical Physicists. Biological and Medical Physics, Biomedical Engineering. Second Edition. Springer.
- [12] ANTUNES, M., SEBASTIÃO, D., LADEIRA, D., CORREIA, L. M., 2009. Fontes de Radiação Electromagnética. Versão 6.
- [13] Argonne National Laboratory – Human Health Fact Sheet, 2005. Ionizing Radiation.
- [14] LOMBARDI, Max H., 2007. Radiation Safety in Nuclear Medicine. Second Edition. Taylor & Francis Group.
- [15] ATTIX, Frank H., 2004. Introduction to Radiological Physics and Radiation Dosimetry. Wiley-VCH.
- [16] BELCHIOR, Ana Lúcia V., 2007. Contributo para um sistema de automação e robótica na fonte experimental de  $^{60}\text{Co}$ /ITN – Distribuição de dose por simulação Monte Carlo e sua validação por dosimetria física e química. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- [17] TURNER, James E., 2007. Atoms, Radiation and Radiation Protection. Third Edition. Wiley-VCH.
- [18] NATO, 1994. Chapter 2 – Conventional and Nuclear Weapons – Energy Production and Atomic Physics. Handbook on the Medical Aspects of Nuclear, Biological and Chemical Defensive Operations. Department of the Army, the Navy and the Air Force.
- [19] PODGORSK, Ervin B, 2005. Chapter 1 – Basic Radiation Physics. Radiation Oncology Physics: a handbook for teachers and students. **International Atomic Energy Agency**.

- [20] AHMED, Syed Naeem, 2007. Physics and Engineering of Radiation Detection. Elsevier.
- [21] QUEZADA, Valéria, 1997. Estabelecimento de um sistema dosimétrico para doses altas utilizando vidros. Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
- [22] INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IEAE). Gamma Irradiators for Radiation Processing.
- [23] MÖLLER, Sergio V., 2007. Aplicações Industriais das Radiações Ionizantes – Radioatividade. Curso de Especialização em Ciências Radiológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- [24] XAVIER, Ana Maria, MORO, José T., HEILBRON, Paulo F., 2006. Princípios Básicos de Segurança e Protecção Radiológica. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Terceira Edição. Revisada.
- [25] BOHRER, Alessandra C. A., 2011. Comparação dos sistemas dosimétricos de alanina e do filme radiocrômico B3 na irradiação industrial por feixe de electrões. Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia.
- [26] SOARES, Gabriela, SQUAIR, P. L., PINTO, Fausto, BELO, L. C. M., GROSSI, P. A., 2009. Assessment of dose rates in industrial gamma irradiation facilities using Fricke and Thermoluminescent dosimetric systems. **Associação Brasileira de Energia Nuclear**.
- [27] LOVELL, S., 1979. An Introduction to Radiation Dosimetry.
- [28] PODGORSK, E. B., SEUNTJENS, J. P., ANDREO, P., 2005. Chapter 9 – Calibration of Photon and Electron Beams. Radiation Oncology Physics: a handbook for teachers and students. **International Atomic Energy Agency**.
- [29] American Society for Testing and Materials (ASTM), 1992. Practice for using the Fricke reference standard dosimetry system. Vol. E1026.
- [30] WHITTAKER, B., WATTS, M., 2001. The influence of dose rate, ambient temperature and time on the radiation response of Harwell PMMA dosimeters. **Radiation Physics and Chemistry**, vol. 60, no. 1-2, p. 101 – 110.
- [31] FERNANDEZ, A. [et al.], 2005. Gamma dosimetry using Red 4034 Harwell dosimeters in mixed fission neutrons and gamma environments. **Nuclear Science**, vol. 52, no. 2, p. 505 – 509.
- [32] BIANCHI, Maria, ANTUNES, Lusânia, 1999. Radicais livres e os principais constituintes da dieta. Artigo de Revisão.
- [33] BADARINATH, A. V. [et al.], 2010. A Review on *In-Vitro* Antioxidant Methods: Comparisons, Correlations and Considerations. **International Journal of PharmTech Research**, Vol. 2, n. 2, p. 1276 – 1285.
- [34] MAIA, Marciane da Silva, 2003. Espécies reactivas do metabolismo do oxigénio, antioxidantes e função espermática. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista.
- [35] ALVAREZ-PARRILLA, E. [et al.], 2007. Total phenols and antioxidant activity of commercial and wild mushrooms from Chihuahua, Mexico. **Sociedade Mexicana de Nutrición y Tecnología de los Alimentos**.
- [36] MAGALHÃES, Luís Miguel Andrade, 2007. Development of Automatic Methods based on flow techniques for evaluation of antioxidant capacity in pharmaceutical and food products. Dissertação de Doutoramento. Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.
- [37] GONÇALVES, Rui Miguel Freitas, 2007. Estudo da inibição de tripsina por compostos fenólicos isolados de fontes naturais. Efeito antinutricional de bebidas comuns. Dissertação de Mestrado. Universidade do Minho.

- [38] ANGELO, Priscila Milene, JORGE, Neuza, 2007. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 66, p. 232 – 240.
- [39] APAK, Resat [et al.], 2007. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. **Molecules**, 12, p. 1496 – 1547.
- [40] SILVA, Lisete M. [et al.] (2010). Determinação do poder anti-radicalar dos compostos fenólicos das pêras frescas e secadas de S. Bartolomeu. Avaliação da sua biodisponibilidade ao longo do tracto gastrointestinal. 1º Encontro Português de Secagem de Alimentos, Viseu.
- [41] SOARES, Sérgio Eduardo, 2002. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição de Campinas**, 15, p. 71 – 81.
- [42] DEGÁSPARI, Cláudia Helena, WASZCZYNSKYJ, Nina, 2004. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos.
- [43] PRIOR, L. Ronald, WU, Xianli, SCHAICH, Karen, 2005. Standardized Methods of the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, p. 4290 - 4302.
- [44] HUANG, Dejian, OU, Boxin, PRIOR, L. Ronald, 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, p. 1841 – 1856.
- [45] VILLANO, D. [et al.], 2006. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, 71, p. 230 – 235.
- [46] GETOFF, Nikola, 1995. Radiation-induced degradation of water pollutants – state of art. **Radiation Physics and Chemistry**, vol. 47, n. 4, p. 581 – 593.
- [47] STAJNER, Dubravka, POPOVIC, Boris M., TASKI, Ksenija, 2009. Effects of  $\gamma$ -irradiation on antioxidant activity in soybean seeds. **Central European Journal of Biology**, 4(3), p. 381 – 386.
- [48] BELCHIOR, A., BOTELHO, M. L., VAZ, P., 2007. Monte Carlo simulations and dosimetric studies of an irradiation facility. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, p. 70 – 72.
- [49] BELCHIOR, Ana Lúcia V., 2007. Contributo para um sistema de automação e robótica na fonte experimental de  $^{60}\text{Co}$ /ITN – Distribuição de dose por simulação Monte Carlo e sua validação por dosimetria física e química. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa.
- [50] INSTITUTO TECNOLÓGICO E NUCLEAR (ITN), 2003. Protocolo para utilização do Thermoreactor TR300.
- [51] SOUSA, Eduardo R., 2001. Noções sobre Qualidade da Água. Instituto Superior Técnico.
- [52] BISUTTI, Isabella, HILKE, Ines, RAESSLER, Michael, 2004. Determination of total organic carbon – an overview of current methods. **Trends Analytical Chemistry**, vol.23, nº 10 – 11, 0. 716 – 726.
- [53] CLEMENTINO, Maria R., NETO, Pedro J., ALENCAR, João R., 2008. Carbono Orgânico Total: Metodologia Analítica e Aplicações para a Indústria Farmacêutica. **Revista Brasileira de Farmácia**, 89 (1), p. 74 – 80.
- [54] HORVÁTHOVÁ, Jana [et al.], 2007. The Influence of Gamma-Irradiation on the Formation of Free Radicals and Antioxidant Status of Oregano (*Origanum vulgare* L.). **Czech J. Food Sci.**, vol.25, nº 3, p. 131 – 143.
- [55] BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C., 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **Lebensm. – Wiss. u.-Technol.**, 28, p. 25 – 30.
- [56] PÉREZ, Mónica B., BANEK, Sónia A., CROCI, Clara A., 2011. Retention of antioxidant activity in gamma irradiated argentinian sage and oregano. **Food Chemistry**, 126, p. 121 – 126.

- [57] SILVA, Daniel J. F. [et al.], 2009. Determinação do potencial antioxidante do extracto filtrado de *Capsicum baccatum* (pimenta dedo-de-maça) através do método DPPH. X Salão de Iniciação Científica – PURCS.
- [58] BONDET, V., BRAND-WILLIAMS, W., BERSET, C., 1997. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH<sup>•</sup> Free Radical Method. **Lebensm.- Wiss. u.- Technol.**, 30, p. 609 – 615.
- [59] BENZIE, Iris F. F., STRAIN, J. J., 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry** 239, p. 70 – 76.
- [60] HUSSEIN, Saba Z. [et al.], 2011. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. **Molecules**, 16, p. 6378 – 6395.
- [61] LIRA, Sachiko Araki, 2004. Análise da correlação: Abordagem teórica e de construção dos coeficientes com aplicações. Dissertação para obtenção de Grau de Mestre em Ciências. Universidade Federal do Paraná.
- [62] FILHO, Dalson B. F., JÚNIOR, José A. S., 2009. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). Revista Pública Hoje, vol. 18, nº1, p. 115 – 146.
- [63] SANTOS, Carla, 2007. Estatística Descritiva – Manual de Auto-aprendizagem. Lisboa. Edições Sílabo.
- [64] DIAS-MACHADO, M. [et al.], 2006. Treatment of cork boiling wastewater using chemical oxidantion and biodegradation. **Chemosphere** 64 (3), p. 455 – 461.
- [65] GUEDES, A. M. F. M. [et al.], 2003. Fenton oxidantion of cork cooking wastewater – overall kinetic analysis. **Water Research** 37, p. 3061 – 3069.
- [66] MENDONÇA, E. [et al.], 2007. Ecotoxicological evaluation of cork boiling wastewaters. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 66, p. 384 – 390.
- [67] MELO, R. [et al.], 2008. Gamma radiation induced effects on slaughterhouse wastewater treatment. **Radiation Physics and Chemistry**, 77 (1), p. 98 – 100.
- [68] BAO, H., LIU, Y., JIA, H., 2002. A study of irradiation in the treatment of wastewater. **Radiation Physics and Chemistry** 63, p. 633 – 636.
- [69] SILVA, Carla A. [et al.], 2004. Photo-oxidation of cork manufacturing wastewater. **Chemosphere** 55, p. 19 – 26.
- [70] COSTA, C., 1995. Comunicação Pessoal. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- [71] DIAS MACHADO, Maria Manuela, 2005. Degradação Biológica de Polifenóis – Isolamento e Caracterização de Bactérias Mesofílicas e Termofílicas de Água de Cozedura de Cortiça. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- [72] VOLKOV, V. A., DOROFEEVA, N. A., PAKHOMOV, P. M., 2009. Kinetic Method for Studying the Antiradical Activity of Medicinal Plant Extracts. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, Vol. 43, nº 6, p. 333 – 337.







## **ANEXOS**



## **ANEXO A. Protocolo experimental para preparação da Solução Dosimétrica de Fricke**

### **Reagentes**

- Sulfato de amónio ferroso,  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- Cloreto de sódio,  $\text{NaCl}$
- Água desionizada
- Ácido Sulfúrico,  $\text{H}_2\text{SO}_4$

### **Procedimento**

#### Solução de Ácido Sulfúrico 0,4 M (0,8 N)

- São preparadas duas soluções de ácido sulfúrico, uma num volume de 1000 mL e outra em 25 mL;
- No balão de 1000 mL introduzir 22,5 mL de ácido sulfúrico e 0,563 mL no balão de 25 mL. Introduzir previamente água desionizada, uma vez que a reacção é exotérmica;
- Deixar arrefecer as soluções e perfazer o restante volume com água desionizada.

#### Solução de Fricke

- Dissolver 0,392g de sulfato de amónio ferroso e 0,0585g de  $\text{NaCl}$  na solução de 25 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ;
- Transferir para um balão volumétrico de 1000 mL e perfazer o volume com a solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,4 M;
- Tapar o balão com papel de alumínio e guardar em local sem luz.



## ANEXO B. Protocolo experimental para utilização do Thermoreactor TR 300

### Reagentes

- H<sub>2</sub>O (bidestilada, milipore)
- Solução aquosa padrão de dicromato de potássio [K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] = 0,04 mol.L<sup>-1</sup> (0,24 N), contendo sulfato de mercúrio (HgSO<sub>4</sub>)
- Solução aquosa 20% (v/v) de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- Solução de ácido sulfúrico-sulfato de prata
- Solução indicadora de ferroína
- Titulante: solução de sulfato de amónio ferroso, [FAS] = 0,12 N
- Soluções de hidrogenoftalato de potássio (HOOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOK)

### Preparação das soluções

#### Solução de ácido sulfúrico [H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] = 4 mol.L<sup>-1</sup>

- Adicionar, com cuidado, 220 mL de ácido sulfúrico a 500 mL de água.
- Deixar arrefecer e transferir para o balão volumétrico. Perfazer o volume e homogeneizar.

#### Solução de ácido sulfúrico – sulfato de prata

- Dissolver 10 g de sulfato de prata (Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) em 35 mL de água.
- Adicionar 965 mL de ácido sulfúrico.
- Deixar em repouso 1 ou 2 dias para dissolver, agitando de vez em quando.

#### Solução padrão de dicromato de potássio [K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] = 0,040 mol.L<sup>-1</sup> (0,24 N), contendo um sal de mercúrio (HgSO<sub>4</sub>)

- Dissolver 40 g de sulfato de mercúrio em 400 mL de água.
- Adicionar, com cuidado, 50 mL de ácido sulfúrico.
- Deixar arrefecer e dissolver 5,884 g de dicromato de potássio previamente seco a 105°C durante 2h.
- Transferir para um balão, perfazer o volume e homogeneizar.

*A solução é estável durante, pelo menos, um mês.*

#### Solução titulante de sulfato de amónio ferroso [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O] ≈ 0,12 mol.L<sup>-1</sup> (0,12 N)

- Dissolver 47 g de sulfato de amónio ferroso em água.
- Adicionar 20 mL de ácido sulfúrico e arrefecer.
- Perfazer o volume e homogeneizar.

#### Solução padrão de hidrogenoftalato de potássio

- Dissolver em água a quantidade de hidrogenoftalato de potássio consoante a concentração pretendida, previamente seco a 105°C.
- Perfazer o volume e homogeneizar.

*Esta solução é estável, pelo menos, durante uma semana se for conservada aproximadamente a 4°C.*

#### Confirmação do título da solução titulante de sulfato de amónio ferroso

- Para um balão Erlenmeyer, medir 10 mL de solução de dicromato de potássio.
- Diluir a cerca de 100 mL com solução de ácido sulfúrico a 20%.
- Titular com solução de sulfato de amónio ferroso, na presença de 2 gotas de ferroína (mudança de cor azul-esverdeada para castanho-avermelhado).

#### Equipamento

<b>Tipo de reactor</b>	Termóstato seco com cobertura de segurança
<b>Dimensões/Peso</b>	210mmx290mmx115mm / aprox. 3,5 Kg
<b>Capacidade</b>	12 cavidades para tubos de digestão dia. 16+0,2mm 2 cavidades para vasos de digestão dia. 23+0,2mm
<b>Tempo</b>	180min
<b>Temperatura de reacção</b>	148°C
<b>Tempo de aquecimento</b>	Aproximadamente 15 min
<b>Tempo de arrefecimento</b>	Aproximadamente 1h
<b>Temperatura do termoreactor</b>	<30°C para temperatura de reacção de 148°C

#### Protocolo experimental

*No início de cada dia de trabalho, confirmar o título da solução titulante de sulfato de amónio ferroso.*

- 1) Lavar os tubos de cultura com solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 20% antes de cada ensaio para evitar contaminações.
- 2) Colocar a amostra no tubo e adicionar a solução de digestão e a solução de ácido sulfúrico-sulfato de prata, nas quantidades:

3,5 mL de solução  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-Ag}_2\text{SO}_4$

1,5 mL de solução de digestão

2,5 mL de amostra

- 3) Tapar os tubos e homogeneizar a solução.
- 4) Colocar os tubos no termoreactor pré-aquecido a  $148^\circ\text{C}$  e colocar sob refluxo durante 3h, colocando a cobertura protectora de modo a evitar projecções. Deve-se agitar os tubos periodicamente, de 30 em 30 minutos, de modo a homogeneizar a solução.
- 5) Ao fim do tempo previsto<sup>1</sup>, arrefecer os tubos à temperatura ambiente e colocar num suporte adequado (primeiro, arrefecer directamente em água com gelo, de modo a evitar a libertação de compostos voláteis).
- 6) Destapar os tubos, transferir a solução para copos de precipitação e colocar agitadores magnéticos de TFE.
- 7) Adicionar 1 a 2 gotas de ferroína e titular com solução de sulfato de amónio ferroso (FAS).

*O ponto de titulação dá-se na mudança de cor da solução de azul-esverdeado para castanho-avermelhado, embora o azul esverdeado possa reaparecer após alguns minutos.*

Ao mesmo tempo, fazer a digestão e titulação a uma solução de branco contendo o mesmo volume de reagentes e o volume de água destilada correspondente ao volume da amostra.

### CONFIRMAÇÃO DO PROTOCOLO USANDO O TERMOREACTOR TR300

- Com o objectivo de confirmar o protocolo elaborado, realizaram-se vários ensaios com uma solução padrão de hidrogenoftalato de potássio, a várias concentrações com CQO conhecidos – 50, 100, 200, 350, 500, 650, 750, 850, 1000  $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ .

CQO ( $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ )	50	100	200	350	500	650	750	850	1000
KHP (g)	0,0425	0,0850	0,1701	0,2906	0,4252	0,5527	0,6378	0,7228	0,8503
[KHP] ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	0,2082	0,4163	0,8327	1,4230	2,0818	2,7064	3,1227	3,5391	4,1636

- Realizaram-se 3 réplicas para cada solução de KHP.

<sup>1</sup> Pode precipitar sulfato de mercúrio, o que não afectará a análise.





## **ANEXO C. Protocolo experimental de Determinação de compostos fenólicos totais pelo Método Folin-Ciocalteu**

### **Procedimento**

1) Colocar 0,5 mL da amostra, uma solução padrão de calibração de ácido gálico, ou branco (água destilada ou desionizada) num balão volumétrico de 50 mL.

*As amostras e o padrão devem ser analisados em triplicado.*

2) Adicionar aproximadamente 35 ml de água, seguido de 2,5 mL de reagente FC. Agitar para misturar e incubar durante 5 min à temperatura ambiente.

*A incubação não deve ultrapassar os 8 min.*

3) Adicionar 7,5 mL de solução de carbonato de sódio.

4) Adicionar água até à linha dos 50 mL, misturar e incubar durante 2 horas à temperatura ambiente.

5) Transferir 2 mL para a cuvete e medir a sua absorvância a 765nm no espectrofotómetro.

6) Subtrair a absorvância do branco de todas as leituras e criar uma curva de calibração a partir das soluções padrão.

7) Usar esta curva para determinar a concentração de ácido gálico correspondente às amostras. Reportar os valores em equivalentes de ácido gálico (EAG) em mg/litro.

NOTA: Para a obtenção da curva de calibração, usam-se o dobro das medidas até ao ponto 4.

### **Reagentes e soluções**

#### Padrão de Calibração de ácido gálico

Dissolver 0,5 g de ácido gálico em 10 ml de etanol e diluir para 100 mL com água (5g.L<sup>-1</sup> final). Diluir 1, 2, 5 e 10 mL para 100 mL com água para criar padrões com concentrações de 50, 100, 250 e 500 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Armazenar até 2 semanas a 4°C.

#### Solução de carbonato de sódio

Dissolver 200 g carbonato de sódio anidro em 800 mL de água e levar à ebulição. Depois de arrefecer, adicionar alguns cristais de carbonato de sódio e deixar repousar durante 24 horas à temperatura ambiente. Filtrar e adicionar água para 1 litro. Armazenar indefinidamente à temperatura ambiente.



## **ANEXO D. Protocolo experimental para determinação do poder antioxidante DPPH**

### **Preparação das soluções necessárias**

#### Solução de Metanol a 50%

- 1) Colocar 500 mL de metanol num balão volumétrico
- 2) Perfazer a volume com água ultrapura (Milli-Q) e homogeneizar

#### Solução de DPPH 60 $\mu$ M

- 1) Pesar 0,0024 g de DPPH em metanol
- 2) Perfazer o volume com metanol e homogeneizar

### **Curva de calibração**

- 1) A partir da solução inicial de DPPH (60  $\mu$ M), preparar em balões volumétricos de 10 mL, soluções diluídas apresentadas a seguir, perfazendo-as com metanol

<b>Solução de DPPH (mL)</b>	<b>[DPPH]<sub>final</sub> (<math>\mu</math>M)</b>
0	0
1.7	10
3.3	20
5.0	30
6.7	40
8.3	50
10	60

- 2) Em ambiente escuro, colocar 2 mL da solução padrão na *cuvette* e ler no espectrofotômetro a 515 nm. Utilizar metanol como branco.

### **Determinação do poder antioxidante total**

Para o ensaio em branco,

- Colocar num tubo 0,1 mL da solução de metanol a 50% e adicionar 3,9 mL de DPPH (60  $\mu$ M);
- Homogeneizar em vórtex;

- Colocar 2 mL da solução na cuvete e efectuar a leitura no espectrofotómetro a 515 nm;

Para as amostras de água de cozedura de cortiça,

- Colocar num tubo 0,1 mL de amostra;
- Adicionar 3,9 mL da solução de DPPH (60  $\mu$ M);
- Homogeneizar em vórtex;
- Efectuar leituras no espectrofotómetro a 515 nm a cada minuto, durante 30 min ou até ser atingido um patamar.

NOTA: *Estes ensaios são sempre realizados em ambiente escuro.*

## **ANEXO E. Protocolo experimental de determinação do poder antioxidante pelo Método FRAP**

### **Preparação das soluções necessárias**

#### Tampão acetato (300 mM, pH 3,6)

- 1) Pesar 3,1 g de acetato de sódio ( $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ )
- 2) Dissolver num pequeno volume de água ultrapura (Milli-Q)
- 3) Adicionar 16 mL de ácido acético glacial ( $C_2H_4O_2$ )
- 4) Perfazer o volume com água ultrapura (Milli-Q) e homogeneizar

*NOTA: A solução deve ser armazenada a 4°C*

#### Solução de Sulfato Ferroso (1 mM)

- 1) Pesar 0,278 g de sulfato ferroso heptahidratado ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )
- 2) Perfazer o volume com água ultrapura (Milli-Q) e homogeneizar

#### Solução de HCl (40 mM)

- 1) Colocar um pequeno volume de água ultrapura (Milli-Q) no balão volumétrico e adicionar 0,7 mL de HCl concentrado (11M)
- 2) Perfazer o volume com água ultrapura (Milli-Q) e homogeneizar

#### Solução de TPTZ (10 mM)

- 1) Pesar 0,031 g de TPTZ (2,4,6-Tris[2-pyridyl]-s-triazine)
- 2) Adicionar 10 mL de HCl (40 mM)
- 3) Dissolver, em banho-maria, a 50°C.

*NOTA: A solução deve ser feita a cada dia de trabalho*

#### Solução de Cloreto Férrico (20 mM)

- 1) Pesar 0,108 g de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- 2) Dissolver em 20 ml de água ultrapura

NOTA: A solução deve ser feita a cada dia de trabalho.

#### Solução de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

- 1) Medir, com o auxílio da proveta, 200 mL do tampão acetato (300 mM, pH 3,6)
- 2) Pipetar 20 mL da solução de TPTZ (10 mM)
- 3) Pipetar 20 mL da solução de cloreto férrico (20mM)
- 4) Homogeneizar e colocar em banho de água a 37°C

NOTA: A solução deve ser feita a cada dia de trabalho.

#### **Curva de Calibração**

- 1) A partir da solução de sulfato ferroso (1 mM) inicial, preparar as soluções apresentadas, em balões volumétricos de 10 mL;

<b>Solução de Sulfato Ferroso (mL)</b>	<b>[Sulfato Ferroso]<sub>final</sub> (mM)</b>
0	0
1	0,1
2	0,2
4	0,4
6	0,6
8	0,8
10	1,0

- 2) Pipetar 100  $\mu\text{L}$  da solução padrão para um tubo;
- 3) Adicionar 3 mL da solução de FRAP;
- 4) Incubar a 37°C, durante 15 minutos;
- 5) Ler no espectrofotômetro a 593 nm contra água.

NOTA: É importante confirmar o tempo de incubação. Para isso, é necessário fazer leituras de absorvância a cada minuto, ao mesmo tempo que se vai incubando, até se atingir um patamar mais ou menos estável.

#### **Determinação do poder antioxidante total**

- 1) Preparar as diluições necessárias das amostras em estudo;
- 2) Pipetar 100 µL da amostra para um tubo;
- 3) Adicionar 3 mL da solução de FRAP;
- 4) Incubar a 37°C durante 15 minutos;
- 5) Ler no espectrofotômetro a 593 nm contra água.





## **ANEXO F. Leitura dos Dosímetros de Polimetilmetacrilato**

### **Procedimento**

- 1) Com a ajuda da pinça, retirar o dosímetro do interior da embalagem onde se encontra;
- 2) Medir as absorvâncias no espectrofotómetro (é importante que se leiam as absorvância nas duas extremidades do dosímetro);
- 3) Medir a espessura do dosímetro através do Micrómetro.

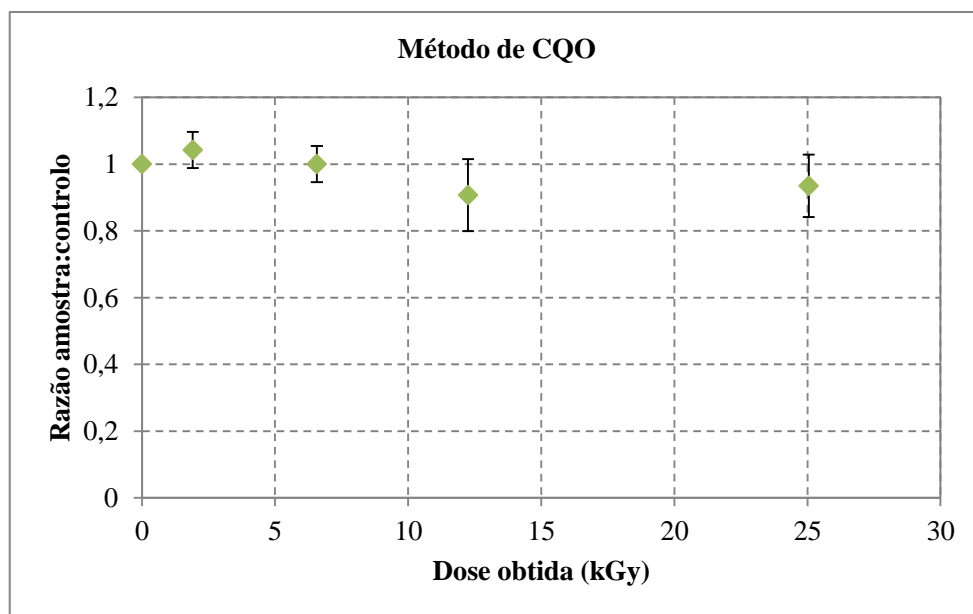


## ANEXO G. Resultados experimentais referentes à irradiação do nível 3

Os resultados obtidos para a irradiação efectuada no nível 3 da Precisa 22 são apresentados em anexo, pois considerou-se que eram discrepantes em relação aos obtidos para as irradiações dos outros níveis e não fazia sentido incluí-los na discussão dos resultados. Este fenómeno pode dever-se ao facto de ter havido um problema técnico no equipamento de irradiação, que impediu que as irradiações terminassem nos tempos previstos. Os débitos de dose obtidos foram muito variáveis (variaram entre 1,33 e 2,33 kGy/h) e as doses absorvidas não foram concordantes com as doses esperadas (foram inferiores).

Os resultados são apresentados em termos de razões das amostras irradiadas (a diferentes doses) pela amostra de controlo (amostra não irradiada).

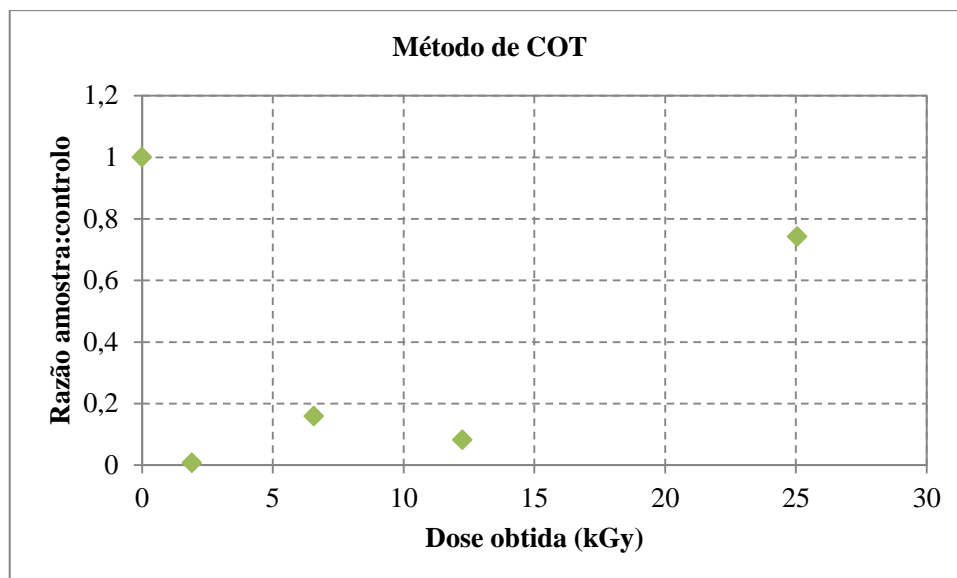
O efeito da radiação gama na quantidade de matéria orgânica presente nas águas de cozedura de cortiça está representado na Figura VI.1. ( $n=3$ ,  $\alpha=0,05$ ).



**Figura VI.1. Comportamento da quantidade de matéria orgânica em função da dose de irradiação ( $n=3$ ,  $\alpha=0,05$ )**

Pela Figura VI.1., conclui-se que não existem diferenças entre a quantidade de matéria orgânica presente na amostra irradiada e nas amostras irradiadas. Seria de esperar que a radiação gama provocasse uma diminuição da matéria orgânica, pois com a formação de espécies reactivas que oxidam as moléculas, a matéria orgânica oxidável diminui.

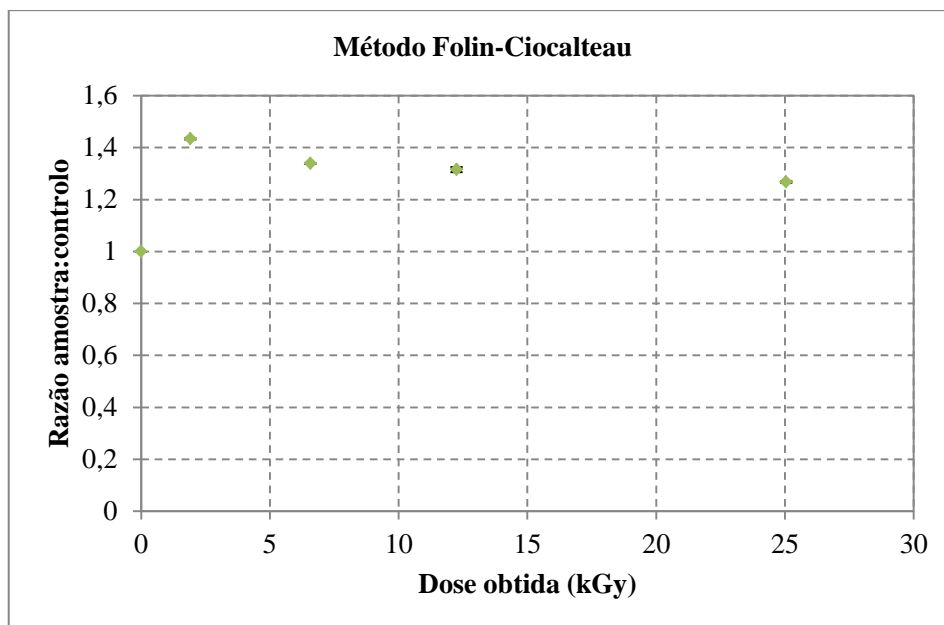
Na Figura VI.2. estão representadas as razões da quantidade de carbono orgânico das amostras irradiadas pela amostra de controlo.



**Figura VI.2. Razões das amostras irradiadas e não irradiada, para o carbono orgânico total, em função da dose obtida (kGy)**

Como se pode observar, a quantidade de carbono orgânico a 2 kGy varia consideravelmente em relação à quantidade da amostra não irradiada (razão  $\approx 0$ ). Além disso, para doses mais elevadas, a quantidade de carbono orgânico deveria diminuir ao contrário do que acontece. Era esperado que a quantidade de carbono orgânico acompanhasse o comportamento da quantidade de matéria orgânica presente nas amostras de água de cozedura de cortiça, quando estas são irradiadas.

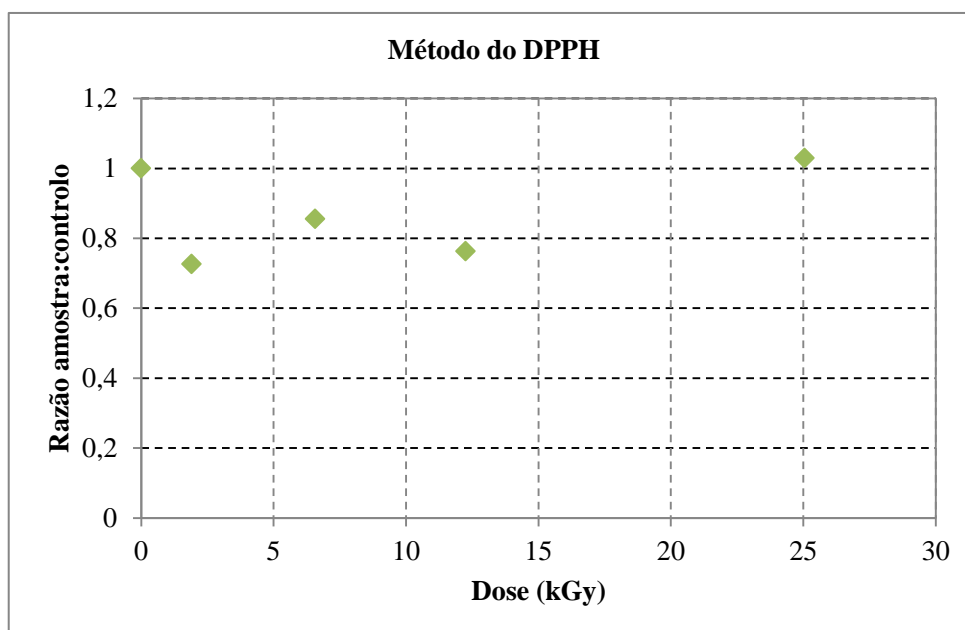
A Figura VI.3. mostra o comportamento dos compostos fenólicos presentes nas amostras de água de cozedura de cortiça, representado pelas razões das amostras irradiadas pela amostra de controlo ( $n=3$ ,  $\alpha=0,05$ ).



**Figura VI.3. Conteúdo em compostos fenólicos em função da dose obtida (kGy) - razões das amostras irradiadas pela amostra de controle (n=3,  $\alpha=0,05$ )**

Pela Figura VI.3., observa-se que o conteúdo de compostos fenólicos aumenta em relação ao conteúdo da amostra não irradiada. No entanto, para doses acima de 2 kGy, a quantidade de fenólicos presentes diminui, pese embora seja maior do que na amostra de controle.

A Figura VI.4. mostra a actividade antioxidante das águas de cozedura de cortiça, quando as amostras são sujeitas a radiação, representada pelas razões das amostras irradiadas pela amostra de controle (n=3,  $\alpha=0,05$ ).



**Figura VI.4. Razões obtidas de actividade antioxidante das amostras irradiadas pela não irradiada (n=3,  $\alpha=0,05$ )**

Observando a Figura VI.4., conclui-se que a radiação gama provoca uma diminuição na actividade antioxidante dos compostos presentes nas águas de cozedura de cortiça. No entanto, para uma dose de 25 kGy, a actividade antioxidante não sofre alterações em relação à amostra não irradiada.

Não foi efectuado o método do Poder Redutor Férrico (FRAP), pois não havia amostra suficiente para a realização deste método. Porém, pelo apresentado anteriormente para os restantes parâmetros, não se considerou necessário a realização deste teste.